



DEQUESNES Rémi

Rapport de projet d'étude dans l'institut de recherche du PRAM, stage Co-encadré par la Fredon et le Cirad : Septembre 2012-Janvier 2013

PROJET FEADER

Evaluation du pouvoir assainissant de plantes de services pour réduire

Le flétrissement bactérien de la tomate (*Ralstonia Solanacearum*) en Martinique

Maîtres de stage : Rémi Picard

Enseignant tuteur : Pierre-Yves Bernard

Péninna DEBERDT



Remerciements

Je tiens avant tout à remercier Rémi Picard, ingénieur agronome à la Fredon chargé de l'étude, pour son aide apportée tout au long de mon stage, de la prise en main de tous mes papiers administratifs et de ses conseils en tant que futur ingénieur.

Je tiens également à remercier Peninna Deberdt et Paula Fernandes, chercheuses au Cirad, pour m'avoir conseillé tant sur la mise en place des essais que sur la conception du mémoire.

Je remercie Jessica Thomas, pour son temps consacré à l'avancé des mes essais.

Tous mes remerciements à Sonia Minatchi, pour m'avoir initié aux manipulations de laboratoire, sa gentillesse et sa bonne humeur.

Merci à Régine Coranson-Beaudu, Alain Pelage, Joël Daniel, Jérôme et les techniciens de la Fredon pour leur bonne humeur, leur humour et leur aide apportée sur le terrain.

Enfin je remercie grandement tous les VSC, stagiaires et thésards du Cirad pour leur bonne humeur, leur amitié, et le partage des connaissances sur de multiples sujets au cours de discussions toujours très vivantes.

SOMMAIRE

Introduction	6
1Le contexte actuel de la tomate en Martinique	9
1.1 La dynamique agricole de la Martinique	9
1.2 Les cultures maraichères	9
1.3 La culture de la tomate	10
2. L'AGENT <i>Ralstonia solanacearum</i>	12
2.1 Origine et classification de l'agent <i>Ralstonia solanacearum</i>	12
2.2Epidémiologie du flétrissement bactérien	15
2.3Facteurs influençant la propagation	15
2.4 Les différentes méthodes de lutte contre <i>R.solanacearum</i>	16
3La démarche	19
4. Objectif des essais	23
5. Dispositif expérimental.....	26
5.1 Les modalités	26
5.2 Dimension des expérimentations.....	27
5.3 Les modalités de semis.....	28
5.4 Le déroulement de l'expérimentation	28
5.5 Mesure de l'incidence du flétrissement bactérien.....	28
5.6 Mesure de biomasse aérienne des PdS.....	29
5.7 Mesure de l'incidence du flétrissement bactérien.....	29
5.8 Evaluation de l'activité microbienne du sol	30
6 mise en œuvre	33
6.1 Adaptation des modalités de semis	33
6.2 Germination des légumineuses et reprise des oignons	33
7 Conduite et suivi des expérimentations	35
7.1. Phase 1	35
7.2 Phase 3	37
8 Biomasse aérienne.....	37
9 Bilan de l'activité enzymatique et teneur en azote minéral du sol.....	40
9.1 Echantillons Louis Lepasteur	40
9.2 Echantillons Harris Elisabeth	45
10. L'ESSAI Bion 50WG.....	46
10.1 Définition du Bion 50WG.....	46
10.2 Travaux reportés dans la littérature.....	46

10.3 Modes d'utilisation et précautions d'emploi	47
10.4 Expérimentation en serre : Gestion du flétrissement bactérien de la tomate par le Bion 50WG	47
Conclusion.....	57

Index/abréviation

Recourage : Action de remplacer les plants abimés ou détruits avec des plants du même lot après la plantation.

PdS : Plantes de services

Flash Kits : Les Flashkits sont des kits de tests, basés sur le principe de l'immuno-chromatographie, qui se sert de la réaction antigène-anticorps avec des résultats extrêmement fiables.*

Services écosystémiques : Les services écosystémiques sont les bénéfices que les hommes tirent des écosystèmes.

Diapause : C'est l'action dans lequel un organisme (insecte ou autre) se met pour se protéger et survivre pendant une période où les conditions lui sont hostiles

Aliquote : Une aliquote est une fraction d'une quantité totale d'une solution.

INTRODUCTION

L'agent du flétrissement bactérien, *Ralstonia solanacearum* est une bactérie qui a été découverte sur l'île de la Martinique dans les années 1960. Aujourd'hui on dénombre deux populations et trois phylotypes du complexe d'espèces *R. solanacearum*. La population faisant l'objet de mon étude est la population la plus virulente de la Martinique (les souches appartiennent au phylotype II/sequevar4NPB).

Ralstonia solanacearum est une bactérie tellurique phytopathogène de la famille des Burkholderiacées. Cette Gram- cause de très gros dégâts sur les cultures maraichères entraînant la perte quasi-totale des récoltes. Son mode d'action est très rapide et irréversible. Cet agent pathogène attaque la quasi-totalité des espèces de la famille des solanacées. Cependant elle se développe et se propage plus rapidement sur la tomate qui présente un intérêt économique majeur sur l'île de la Martinique. L'agent *R. solanacearum* fait l'objet d'études depuis plusieurs années afin de limiter son champ d'action par la mise en place de techniques durables et respectueuses de l'environnement sur les cultures de tomates. Ces techniques intègrent les dimensions écologiques, économiques et sociales. C'est ce qu'on appelle l'Agroécologie, un des axes majeurs de la recherche au sein du pôle de recherche agroenvironnementale de la Martinique (PRAM). Il a pour objectif de proposer des alternatives à l'agriculture conventionnelle.

Le centre de coopération internationale en recherche agronomique (Cirad) en Martinique et la fédération régionale de défense contre les organismes nuisibles (Fredon) travaillent en étroite collaboration sur le projet suivant : **Evaluation de l'effet assainissant de 4 espèces végétales sur le flétrissement bactérien de la tomate (*Ralstonia solanacearum*) et sur l'activité microbienne du sol, en conditions réelles.**

Les expérimentations conduites durant le stage visent d'une part à valider les études effectuées précédemment, en conditions réelles, chez l'agriculteur et d'autre part à diffuser cette méthode de lutte innovante. Afin de mieux comprendre l'objet de l'étude, une présentation de l'agent *R. solanacearum* ainsi que les avancées des travaux sur les techniques de lutte vis-à-vis de cet agent bactérien seront présentées en première partie ; la deuxième partie sera consacrée à la mise en place et la conduite des expérimentations. Enfin, la dernière partie sera une interprétation et discussion de nos résultats obtenus dans le cadre de cette étude.

Partie 1 : L'agent du flétrissement bactérien de la tomate (*Ralstonia solanacearum*) et les enjeux d'aujourd'hui

Répartition en % des différents types de production agricoles en Martinique, 2009

■ canne à sucre ■ Tubercules et racines ■ légumes frais ■ banane ■ jachère ■ STH ■ Autres

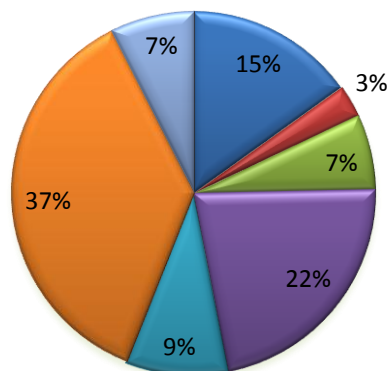


Figure n°1 : Répartition en % des différents types de production agricoles en Martinique en 2009. (Source INSEE)

Répartition de la superficie agricole en Martinique

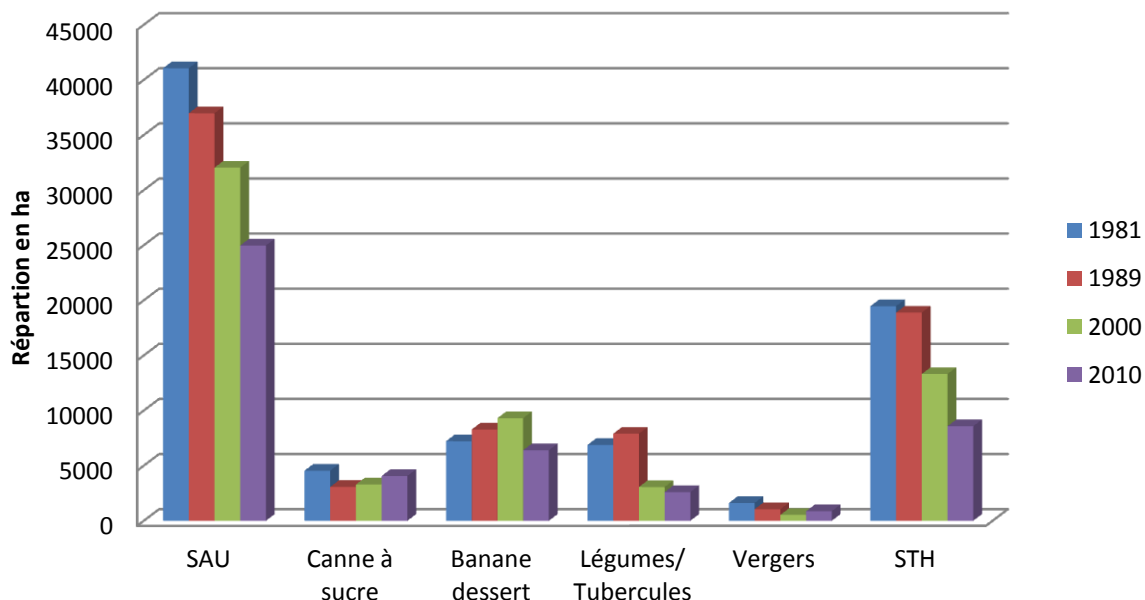


Figure n°2 : Evolution des différents types de production agricoles en Martinique en ha de 1981 jusqu'à 2010 (Source INSEE)

1LE CONTEXTE ACTUEL DE LA TOMATE EN MARTINIQUE

1.1 LA DYNAMIQUE AGRICOLE DE LA MARTINIQUE

La Martinique est une île à un climat tropical, ce qui signifie qu'il n'y a pas de saison marquée. Cette situation entraîne un développement à la fois des espèces végétales et des bioagresseurs tout le long de l'année rendant les productions de l'île très productives mais non sans risques phytosanitaires.

L'agriculture martiniquaise occupe 30 % de la surface de l'île, emploie 12 % de la population active et assure 6 % du produit brut régional. La banane, les légumes, la canne à sucre et l'élevage constituent les quatre productions principales (source Agreste, 2005).

Au total la superficie agricole utilisée du département est de 26 970 ha. (voir figure n°1)

Sur ces 26 970 ha de surface agricole utile, la répartition des cultures se fait majoritairement au profit de la banane et la canne à sucre.

Les plus petites surfaces telles que la surface des productions maraîchères, fruitières ainsi que l'élevage sont majoritairement des productions tournées vers le marché local.

A contrario, les culture de banane et de canne à sucre sont tous deux des cultures excédentaires de l'île et sont vouées à l'exportation. Sur l'année 2009 la banane est exportée à hauteur de 180 065T et la canne à sucre à hauteur de 60 283T (source DAF).

Ces exportations sont en augmentation, environ 30 000T de plus pour la banane et 15 000T de plus pour la canne à sucre par rapport à l'année 2008. Le cyclone Dean qui a eu lieu fin août 2007, a ravagé les bananeraies, c'est pourquoi nous observons sur la figure n°2, une augmentation de la production malgré la diminution en surface des champs de bananiers.

L'évolution des productions en Martinique se fait à la baisse. On observe la réduction annuelle de 543 ha de SAU notamment due à la pression urbaine.

La majeure partie de la production agricole de la Martinique est destinée à l'exportation (filiale banane et canne à sucre-rhum). Conscient de la vulnérabilité de ce modèle alors qu'une grande part de l'alimentation est importée, les pouvoirs publics affirment la volonté de développer la production destinée au marché local et encouragent la diversification.

1.2 LES CULTURES MARAICHÈRES

La production maraîchère de la Martinique ne permet pas l'autosuffisance. Ce secteur doit donc importer pour compenser le déficit.

En effet, les récoltes locales couvrent 50% des besoins en maraîchage pour une production totale de 9500T et 70% des besoins en légumes pour une production de 50 000T en 2008. Il y a donc un potentiel de progression pour atteindre l'autosuffisance. Cependant les agriculteurs sont confrontés à des problèmes phytosanitaires, aléas climatiques et pollution des sols.

Ces problèmes ont induit une diminution des surfaces maraîchères cultivées malgré l'intérêt de ces cultures et le prix de vente élevée.

Il est important de revoir le développement du secteur des légumes frais et des fruits car ils permettent à l'agriculteur de diversifier sa production et sont rentables.

Son développement doit se faire de façon pérenne et de façon contrôlée afin de limiter l'impact des ravageurs et retrouver un certain équilibre viable pour la plante.

1.3 LA CULTURE DE LA TOMATE

La tomate appartient à la famille des solanacées, c'est la culture maraîchère la plus cultivée au monde. Son cycle cultural dure de 8 à 10 semaines en Martinique. Il est possible de la cultiver sans interruption sur l'île de Janvier à Septembre tant les conditions sont idéales. La culture de la tomate est pratiquée pour la plupart dans la région Nord-Caraïbe. Notamment car cette région lui est plus profitable d'un point de vue climatique.

Elle est une grosse consommatrice d'azote, elle en consomme tant que qu'il y en a. Il lui faut un apport d'environ 5 mm/j d'eau. Elle a besoin d'une durée de 60 jours pour finir son cycle végétatif. Ce qui veut dire qu'on peut obtenir 3 à 4 cycles par année.

En Martinique, certains agriculteurs ont cultivé la tomate toute l'année sans interruption pendant 3 à 4 ans et eurent pour conséquence la perte totale de leur culture. (Comm. Pers., David Elisabeth) En effet la monoculture (répétition des cycles) est déconseillée car elle favorise les maladies et appauvrit les sols car les mêmes éléments nutritifs sont prélevés en permanence.

La production de la tomate a chuté depuis la crise sanitaire de 2004 et de 2005 (arrivée d'une nouvelle souche de *Ralstonia*), le volume de tomate en Martinique est passé de 6000T en 2003 à 2000T en 2004. L'association de fortes précipitations et fortes chaleurs ont favorisé le développement de *Ralstonia* et du TYLC (c'est un virus apparu en 2002 et qui est transmis par le vecteur *Bemisia tabaci*, appelé aleurode) qui sont responsables de la chute de production de tomate. A cette chute de production est corrélée une hausse des prix comme nous l'indique le tableau n°1 ci-dessous :

		Unité: euro par kilogramme				
Produits		2004	2005	2006	2007	2008
Tomate	Kg	1,73	1,75	1,8	2,31	1,45

Tableau n°1 : Prix annuel moyen observé de la tomate (source agriculture.gouv, DAF)

Les variétés de tomate produites sur l'île sont majoritairement la Heatmaster et les variétés TX62 et TX54. Ces deux dernières résistent tellement peu qu'il n'est pas rare de voir 100% de pertes sur une culture en plein champ.

N'existant aucun traitement chimique efficace et afin de répondre à la demande locale de la population des projets de serre ont été mises en place, il y a plus de 5ha de tomates sous serre en Martinique (source : agriculture.gouv).

Des projets pour la culture en plein champ sont en au cours d'étude, intégrant la dimension de développement durable, tel que le projet auquel je suis affecté.

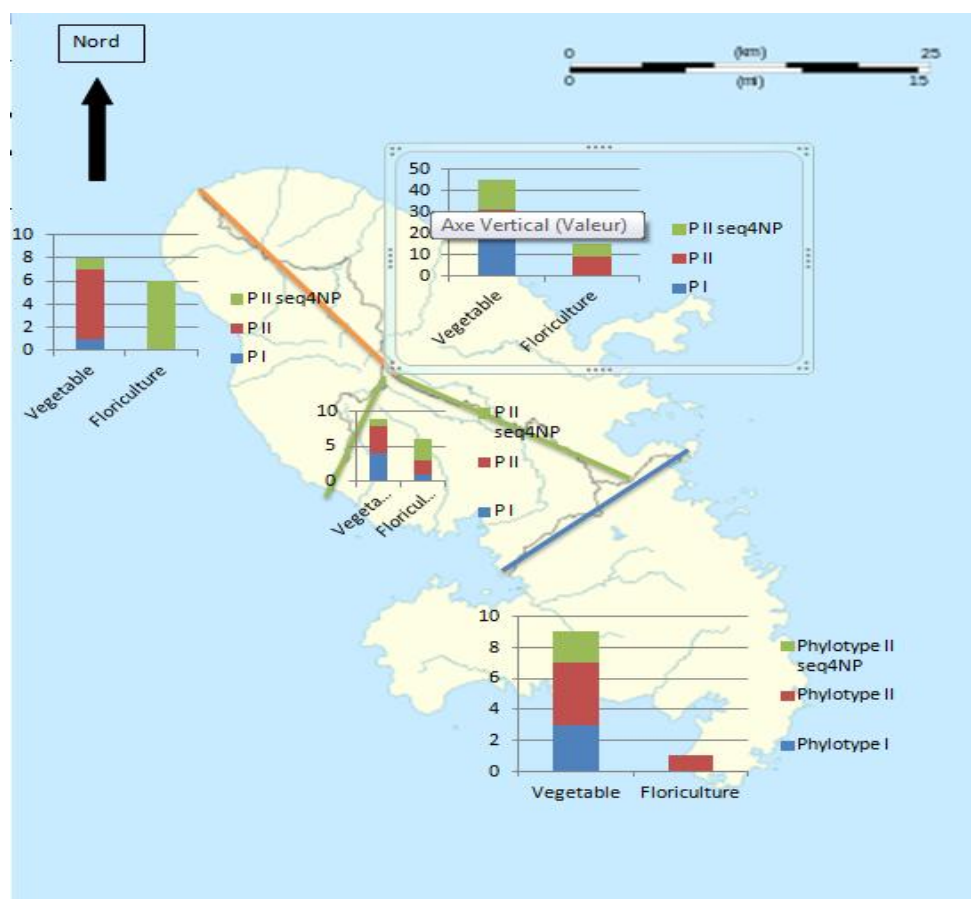


Figure n°3 : Répartition géographique des différentes souches de *ralstonia* en Martinique datant de 2005 (Source Wicker et al, 2005)

2. L'AGENT *RALSTONIA SOLANACEARUM*

L'agent *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Yabuuchi et al. 1996 est une bactérie tellurique, responsable du flétrissement bactérien. Elle est de forme bacillaire à Gram négatif. Elle a dispositif respiratoire aérobie strict.

Sa gamme d'hôtes potentiels est vaste, il est notamment un des agents pathogènes les plus importants sur cultures maraichères et est placé organisme de quarantaine dans certaines régions tels que l'Europe, le Canada et les Etats-Unis. Pour ce dernier il est classé avec 9 autres phytopathogènes, sur la liste des agents pathogènes potentiellement utilisables dans les actions de bioterrorismes (source arneflhor)

2.1 ORIGINE ET CLASSIFICATION DE L'AGENT *RALSTONIA SOLANACEARUM*.

On retrouve l'agent du flétrissement bactérien dans différentes régions du monde sous différents aspects génétiques. Cet agent s'est adapté aux différents climats du globe, mais sa présence est plus prononcée dans les régions chaudes, tropicales et subtropicales.

Deux populations de *Ralstonia solanacearum* co-existent en Martinique sur solanacées :

- (i) La population historique qui comprend le phylotype I et le phylotype II (décrit par Digat et Escudé, 1967) ;
- (ii) La population émergente qui comprend le phylotype II/sequevar 4NPB, plus virulente, qui a été mise en évidence en 1999 en Martinique ; cette population a également élargi son spectre d'hôtes aux cucurbitacées.

On peut voir d'après la Figure 3 une présence plus importante du phylotype II / sequevar 4NPB au Nord de l'île en comparaison au Sud.

La région du Nord est plus infectée par *R. solanacearum* Phyl II/ sequevar 4NPB que le Sud car de meilleures conditions de croissance *R. solanacearum* sont réunies (chaleur et humidité).

La classification de *R. solanacearum* a évolué avec le temps. En effet, il est difficile de classer une telle diversité génétique et phénotypique. Les transferts génétiques horizontaux, autrement appelé conjugaison génétique ont favorisé cette grande plasticité génomique. L'agent *R. solanacearum* dispose d'un large spectre de plantes d'hôtes qui s'étend à plus de 450 espèces regroupées dans 54 familles, qu'elles soient monocotylédones ou dicotylédones.

Fegan et Prior (2005) ont suggéré une hiérarchisation basée sur le séquençage des gènes de l'ARN 16S-23S, de la région ITS et de l'endoglucanase (*egl*) et du gène HrpB de l'agent *R. solanacearum*. Il est ainsi divisé en 4 phylotypes. Chaque phylotype est corrélé une origine géographique.

On retrouve au sein de chaque phylotype des biovars ; les biovars regroupent les souches selon leur aptitude à hydrolyser trois disaccharides et trois hexoses alcool.

Si on se réfère à l'origine de *R. solanacearum* de Martinique, le phylotype 1 contient des souches originaires d'Asie alors que le phylotype 2 contient des souches originaires des Amériques.

Les deux dernières (phylotypes 3 & 4) sont respectivement originaires de souches africaines et du Japon.

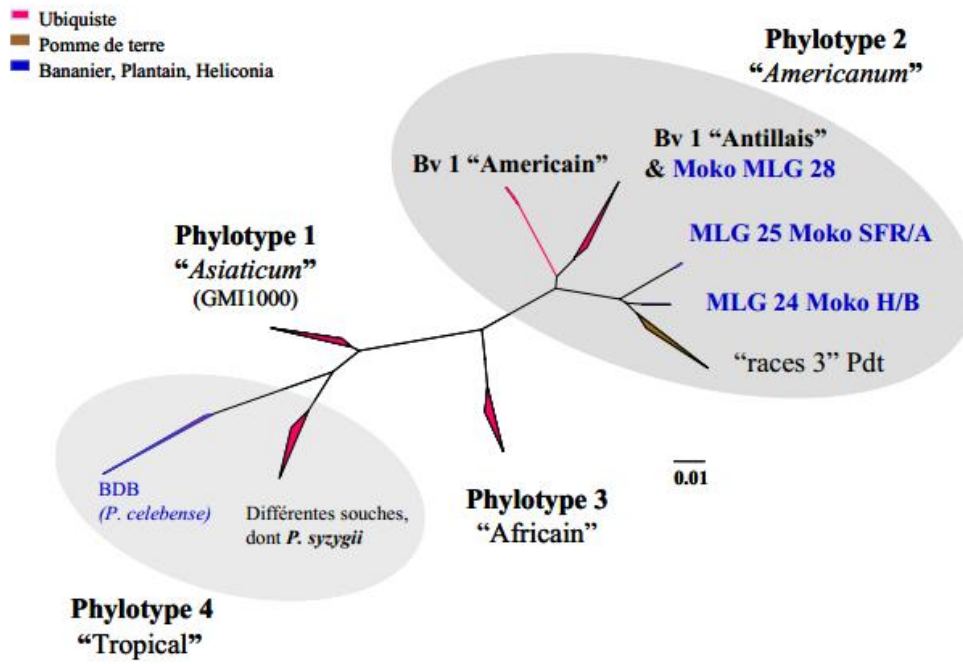


Figure n°4: Classification des différentes souches *R. solanacearum* (BAN-b1)

La souche étudiée dans ce projet appartient à la population émergente de *R. solanacearum* (Phyll /4NPB) ; elle est proche de celles responsables de la maladie de Moko (race 2, biovar 1) qui interviennent sur les bananes mais elle est actuellement non pathogène sur bananier.

2.2 EPIDEMIOLOGIE DU FLÉTRISSEMENT BACTÉRIEN

2.2.1 LES STATUTS D'HÔTES DES PLANTES DE L'AGENT *R. SOLANACEARUM*

L'agent *Ralstonia solanacearum* possède deux types de plantes hôtes :

- Les plantes hôtes « sensibles » développent des symptômes de flétrissement bactérien. Ce dernier est irréversible et va causer la mort de la plante. On retrouve comme plantes hôtes les cucurbitacées et les solanacées.
- Les plantes hôtes « latents », autrement appelés « plantes réservoirs » sont des porteurs sains de la bactérie ; ils ne développent pas de symptômes visibles. Ils contribuent à la survie de la bactérie dans le sol. On y retrouve des adventices tels que le pourpier (*Portulaca oleracea*) ou les morelles (*Morus* spp.).

2.2.2 LES SYMPTÔMES DU FLÉTRISSEMENT BACTÉRIEN

Présente dans le sol, la bactérie pénètre dans les racines, tige via des blessures/lésions pour remonter le réseau systémique via les vaisseaux du xylème. Un processus de blocage de la sève par la bactérie est alors commencé provoqué par sa multiplication trop importante. Ce processus est irréversible. Se retrouvant sans eau ni nutriment les feuilles vont flétrir (épinastie foliaire) puis le plant va alors mourir.

2.2.3 LES DIFFÉRENTS MODES DE PROPAGATION DE *R. SOLANACEARUM*

La dissémination de la bactérie s'effectue par différents vecteurs:

- L'eau : La bactérie se répand par les eaux pluviales et s'étend également par les systèmes d'irrigations contaminés.
- Les infestations primaires par les nématodes phytopathogènes : La pénétration des bactéries est d'autant facilitée que les blessures au niveau des racines sont nombreuses. Ces blessures sont généralement provoquées par les nématodes à galle du genre *Meloidogyne* sp.
- Le réseau racinaire de plantes contaminées : il suffit d'un contact entre les racines pour que la maladie se transmette d'un plant malade à un plant sain.
- Le matériel agricole contaminé : Il suffit d'outils ou de bottes non désinfectées pour que la bactérie se propage.
- Le matériel végétal contaminé : Les végétaux tels que les adventices ou débris de végétaux peuvent perpétuer la survie de la maladie dans le sol sur le même principe que les plantes hôtes latentes.

2.3 FACTEURS INFLUENÇANT LA PROPAGATION

Certains facteurs favorisent les différents modes de propagation citée ci-dessus.

- Certaines pratiques culturales influencent cette dissémination :

- Une forte densité de semis va favoriser le contact entre les racines.
- Un mauvais drainage de l'eau entraînant une stagnation de l'eau
- L'absence de rotation favorise la multiplication d'agents pathogènes car leur cycle de vie n'est jamais cassé. Ajouté à ce phénomène on observe une fatigue des sols accrus entraînant une baisse des rendements.
- Certains types de sols favorisent cette dissémination, c'est le cas des sols argileux et humides. A l'inverse le sol sableux est moins propice à l'installation de l'agent de flétrissement.

➤ Certains nématodes du genre *Meloidogyne*

Les nématodes provoquent des galles racinaires favorisant l'entrée des bactéries et diminuant la résistance de la plante parasitée.

➤ La répartition naturelle de la bactérie en climat tropical

La race 3 dite race « froide » se situe en Europe dans les régions au climat tempéré, la température minimum de croissance est de 15°C, en dessous de 15°C sa croissance est stoppée.

La race 1 dite race « chaude » se propage tout au long de l'année car le climat tropical est propice à son développement (humidité et chaleur).

Les conditions climatiques permettent une mise en culture toute l'année, encourageant peu les agriculteurs à une diversification des cultures. Il devient donc difficile de lutter contre *R.solanacearum*.

2.4 LES DIFFERENTES METHODES DE LUTTE CONTRE *R.SOLANACEARUM*

Il existe différentes méthodes de lutte :

2.4.1 PROPHYLAXIE

La prophylaxie est un processus de prévention de l'apparition de la maladie, il englobe toutes les précautions à prendre des facteurs influençant la propagation de la bactérie.

En cas d'infection du sol ce système n'est plus efficace. Il faut donc entreprendre d'autres méthodes de lutte complémentaire.

2.4.2 EMPLOI DE VARIETES TOLERANTES/RESISTANTES

L'emploi de variétés de tomate dites « tolérantes », c'est à dire qui tolère une certaine dose l'agent du flétrissement. La variété Heatmaster est la variété commerciale la plus utilisée en culture de plein champ par les agriculteurs Martiniquais. Cette variété est résistante aux nématodes à galles et est hautement adaptée aux conditions pédo climatiques de la région.

L'emploi de la variété Heatmaster doit être combiné à d'autres méthodes de lutte pour avoir une réelle incidence sur l'agent de flétrissement.

2.4.3 L'APPORT D'AMENDEMENT ORGANIQUE

L'amendement organique du sol dans un champ infesté par *R.solanacearum* a un effet notoire sur le flétrissement bactérien des tomates. Des travaux ont montré qu'un apport (riche en matière organique) augmente la microfaune du sol (mesuré par le taux de CO₂ dégagé) entraînant un changement de l'activité microbienne (Islam *et al*, 2003).

D'autres travaux aux Philippines ont permis d'identifier des éléments influençant *R.solanacearum*. Un pH très basique ainsi que le nitrite induit une baisse de la population de la bactérie (Vincent *et al*, 1997).

2.4.4 ROTATIONS/ASSOCIATIONS CULTURALES

La rotation de culture consiste à alterner une culture (ici, elle fait intervenir des espèces végétales non-hôte de l'agent du flétrissement) avec une autre culture à intérêt économique (la tomate). Cette rotation permet de limiter les risques sanitaires des cultures et dans certains cas d'augmenter les rendements pour les cultures économiques. Certaines familles de plantes telles que les légumineuses sont largement connues pour restituer l'azote dans le sol, qui sera à son tour consommé par la tomate. C'est un système agricole efficace sur une durée au minimum de 2 ans.

Des travaux réalisés au Nigeria ont montré que la rotation de la tomate avec d'autres espèces végétales non-hôtes diminue significativement le flétrissement bactérien des cultures de tomates (Adebayo *et al.*, 2009).

L'association culturale intègre deux cultures aux effets bénéfiques réciproques. Cette fois-ci l'espèce végétale à intérêt agronomique agit comme barrière allélopathique, elle intervient pendant la phase culturale.

Il y a peu de références sur cette méthode de lutte sur tomate mais elle a fait ses preuves pour l'expression du flétrissement bactérien sur la culture de tabac. La culture de l'œillet d'Inde est associée à celle du tabac. L'exsudat racinaire de l'œillet d'Inde, composé de sulfure, agit comme une substance naturelle biocide. (Terblanche *et al.*, 2007)

Pour obtenir des résultats efficaces, il faut combiner différentes méthodes de lutte connues afin de réduire l'incidence de la maladie et de rétablir un équilibre des populations microbiennes du sol.

Partie 2

Le projet d'étude sur les plantes de services pour
contrôler le flétrissement bactérien : démarche et
objectif de mon stage

3LA DEMARCHE

Les chercheurs de l'équipe Hortsys du CIRAD basés au Campus agro-environnemental Caraïbe ont orienté leurs recherches vers une méthode de lutte contre *Ralstonia solanacearum* basée sur l'introduction de la diversification végétale dans les systèmes de culture existants. Différentes espèces végétales ont été évaluées pour leurs services rendus. Des plantes ont été sélectionnées sur une base multicritères et constituent des plantes assainissantes-modèles pour la gestion du flétrissement bactérien, en conditions tropicales humides.

Ces plantes de services sont généralement utilisées pour remplacer les pesticides dont l'homologation a été retirée (ex du bromure de méthyle). En plus d'être respectueuses de l'environnement et de lutter contre les agents nuisibles, l'intégration de ces plantes dans une rotation de culture permettrait un rendement plus rentable à long terme (moins d'intrants, moins de main d'œuvre, gain de temps pour l'agriculteur, fertilisation du sol, diminuer le risque de problèmes de santé) que l'utilisation fréquente d'agents chimiques.

-La sélection des PdS s'est fait au cours des travaux précédents ; sur une base multicritères :

- Evaluation du statut hôte/ non-hôte des PdS.
- Evaluation du potentiel assainissant des espèces candidates les plus prometteuses au cours du cycle de culture et au cours de la phase d'enfouissement.
- Etude des mécanismes d'action : La biomasse végétale formée durant le cycle végétatif. Cette biomasse se décompose au cours de la phase d'enfouissement ou de mulch et augmente l'activité microbienne dans le sol. On observe deux modes d'actions : d'une part un effet direct de la plante sur l'agent bactérien, comprenant une lutte active à l'aide de molécules biocides et d'autre part un effet indirect de la plante sur l'agent bactérien, la plante de services rétablit l'équilibre dans les populations microbiennes du sol.

Viennent s'ajouter à ces critères de sélection, d'autres critères agronomiques tels que les résultats de production de biomasse végétale, des effets de ces traitements sur la disponibilité de l'azote dans le sol et des effets de ces plantes sur les communautés microbiennes du sol (bactéries, actinomycètes et champignons du sol).

Après plusieurs essais en chambre climatique, serre et station expérimentale (champ) 4 plantes de service modèles ont été sélectionnées : *Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, *Mucuna deeringiana* et *Allium fistulosum* (Fernandes *et al.*, 2012).



Photographie n°1 : *Allium fistulosum* (photo personnelle)



Photographie n°2: *Mucuna deeringiana*(photo personnelle)

Allium fistulosum (voir Photographie n°1)

L'*Allium fistulosum*, plus communément appelé oignon péyi est une plante monocotylédone de la famille des alliées. C'est une plante aromatique originaire de Chine. Elle pousse sous forme de touffe allant jusqu'à 50cm de haut. Son bulbe permet aux limbes de repousser indéfiniment jusqu'à épuisement du plant. Elle favorise l'installation de mycorhizes qui vont favoriser l'absorption de phosphates et stimule la croissance des végétaux. L'oignon s'adapte très bien aux différents climats, il tolère le froid, le chaud, les conditions humides et le stress hydrique. A noter toutefois que l'induction florale se réalise uniquement à basses températures et courtes journées, en milieu tropical c'est la phase végétative qui est favorisée. Pour optimiser sa culture il faut un sol bien ameubli et riche en matière organique avec un PH de 6,5 et des zones de culture en altitudes (fiche agronomique du Cirad).

L'*Allium fistulosum* a des propriétés allélopathiques et biofumigantes (com. Pers. P.Deberdt). En effet, il libère des composés soufrés volatiles insecticides, bactéricides, acaricides, nématicides, fongicides et herbicides. Ces composés répulsifs sont libérés lors de la croissance et de la décomposition de l'oignon péyi. Ces composés soufrés sont propres à la famille des alliées et certains sont tellement puissants (*Allium sativum*) que seulement 1 à 2% d'extrait végétal suffisent à inhiber la croissance de nombreux agents pathogènes (Kyung K.H 2001)

Les différents tests menés par l'équipe du Cirad ont montré que la plante était non hôte de la bactérie et cela même 45 jours après l'inoculation. L'oignon a modifié la composition de la population microbienne en favorisant les bactéries Gram+ et en diminuant significativement les actinomycètes et les populations de *R. solanacearum* (test de l'extrait aqueux qui a montré un fort effet antibactérien)(Deberdt et al.,2012).

Mucuna deeringiana (voir Photographie n°2)

Mucuna deeringiana est une légumineuse annuelle de la famille des Fabacées. C'est une plante grimpante originaire de Chine et l'Est de l'Inde. Ses longues tiges peuvent atteindre 3 à 15m. *M. deeringiana* a la particularité de s'auto-poloniser et se multiplier par graines (ces dernières sont contenues dans des gousses, 5 à 7 graines par gousse). Son cycle végétatif dure entre 4 à 6 mois.

M. deeringiana pousse sur une large gamme d'acidité des sols, PH : 5-8. La température optimale pour son développement se situe entre 19 et 27°C, la plante a besoin de beaucoup de soleil et supporte bien la sécheresse.

On peut utiliser *Mucuna deeringiana* comme engrais vert, elle restitue de 75kg à 200kg azote/hectare pour 5 à 7t/ha de matière sèche. Elle est efficace contre les adventices et peut servir d'alimentation aux animaux (limitation à 10% de la ration) (fiches agronomiques du Cirad)

L'extrait aqueux de *M.deeringiana* a montré un effet inhibiteur sur la croissance de *R.solanacearum*. Il reste à vérifier si la plante est non hôte de l'agent bactérien (com. Pers. P. Deberdt).



Photographie n°3 et 4 : *Crotalaria spectabilis* (à gauche) *Crotalaria juncea* (à droite) (photo personnelle)

Crotalaria juncea & Crotalaria spectabilis (voir Photographie n°3 et 4)

Les crotalaires sont légumineuses (fabacées) annuelles originaires d'Inde. Leur cycle végétatif varie entre 90 à 120 jours.

C. spectabilis peut faire jusqu'à 2m de haut. Elle possède des tiges glabres et fibreuses, des feuilles verticillées et courtes. Ses fleurs sont jaunes et produisent des gousses.

C. juncea est une plante arbustive pouvant atteindre 4m de haut, ses feuilles sont lancéolés et ses fleurs jaunes. Son système racinaire se construit autour d'une racine pivot et profonde.

Toutes deux sont considérées comme plante à croissance rapide et comme de bonnes plantes pour lutter contre les adventices. Ces deux crotalaires nécessitent des conditions pédoclimatiques similaires. Elles se développent sur des sols bien drainés, s'adapte aux sols pauvres en éléments minéraux et pousse sur des sols acides dont le pH varie entre 5 et 8. Elles tolèrent une sécheresse modérée (entre 600 et 1500 mm).

Ces deux plantes ont montré un effet antibactérien avec une efficacité avérée pour *C.spectabilis*. Elles favorisent les communautés bactériennes et actinomycètes.

C. juncea a un effet suppressif également au cours de la phase de décomposition.

D'après les travaux précédemment réalisés au PRAM, d'une façon générale les légumineuses ont tendances à stimuler l'activité microbienne des bactéries ainsi que les actinomyètes alors qu'*Allium fistulosum* augmente significativement les bactéries de type Gram+.

4. OBJECTIF DES ESSAIS

L'objectif de cette étude est de déterminer si les plantes de service PdS-modèles expriment un potentiel suppressif vis-à-vis du flétrissement bactérien de la tomate en conditions réelles de plein champ, après une phase culturale suivie d'une phase de mulch.

Partie 3 :
Les expérimentations en conditions réelles :
mise en place et conduite des essais

Carte pédologique simplifiée de la Martinique au 1/20 000ème

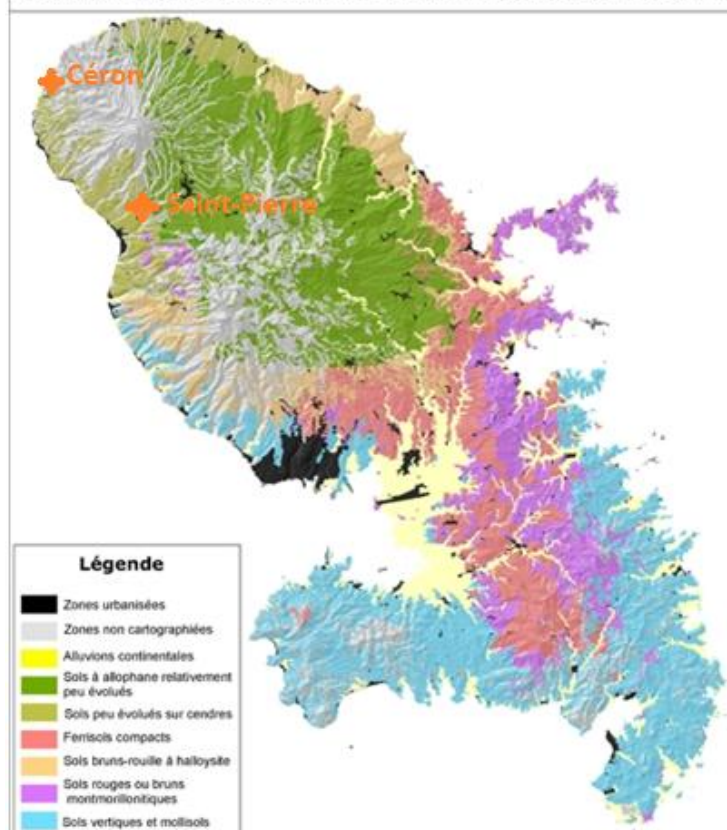


Figure n°5 : pédologie simplifiée de la Martinique (Source IRD)

5. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

La zone d'étude : communes du Prêcheur (Céron) et de Saint-Pierre (voir carte ci-dessous)

La zone étudiée est délimitée dans les zones représentatives de la production de tomate, autrement dit dans le Nord Caraïbe de l'île. Il s'agit de parcelles naturellement infestées par *R. solanacearum*.

Les sols sont sableux et peu évolués. Le potentiel drainant du sol est important, il permet de compenser les fortes précipitations, ainsi les terres disposent d'un sol ressuyé. Les sols peu évolués sur cendres sont riches en éléments minéraux et oligoéléments permettant une bonne croissance des végétaux

Le dispositif expérimental :

Deux parcelles expérimentales ont été mises en place : (i) une parcelle sur la commune de Saint-Pierre sur l'exploitation de Mr. Louis Lepasteur et (ii) une parcelle sur la commune du Prêcheur (Céron) sur l'exploitation de Mr. Harris Elisabeth.

Le dispositif expérimental est un dispositif « factoriel en blocs » ou blocs de Fisher randomisé avec 3 répétitions :

Chaque bloc est composé de 6 traitements, affectés au hasard dans chaque bloc.

On affecte un identifiant à chaque plante, voir l'annexe n°1

Les plans parcellaires des 2 agriculteurs sont joints en annexe n°2 et annexe n°3

5.1 LES MODALITES

Les espèces PdS à tester :

Les plantes sélectionnées et testées sont 4 plantes à cycle long (environ 70 jours) :

- 3 Fabacées (Légumineuses) : *Mucuna deeringiana* cv. Comun, *Crotalaria juncea* cv.IAC-1, *Crotalaria spectabilis* cv. Comun
- 1 Alliace : *Allium fistulosum* cv. Ciboule blanche

Les légumineuses ont été semées alors que l'oignon a été transplanté après parage des bulbes. Les graines proviennent du fournisseur Wolfseeds au Brésil (*C. spectabilis*, *C. juncea*, *M. deeringiana*).

Les plants de tomates (variété Heatmaster, Seminis) ont été préparés chez un pépiniériste (pépinière Adèle, Saint Joseph).

Les oignons-pays, *Allium fistulosum* (variété ciboule blanche) sont produits chez un maraîcher de l'île, au Morne-Rouge.

Les témoins

La tomate, *Lycopersicon esculentum*, constitue le témoin sensible à *R.solanacearum*. La variété Heatmaster a été choisie comme variété de référence pour cet essai. Il s'agit de la variété la plus

utilisée en Martinique en raison de sa bonne tolérance à la chaleur. Elle est tolérante aux souches de *R.solanacearum* appartenant à la population historique de *R.solanacearum*. Ce témoin permettra d'évaluer le potentiel infectieux du sol soumis à la culture de tomate.

Les plants de tomate sont produits par un pépiniériste (pépinière Adèle) puis transplantés au stade 3-4 feuilles (2 semaines environ), après élimination partielle du terreau de semis adhérent au système racinaire.

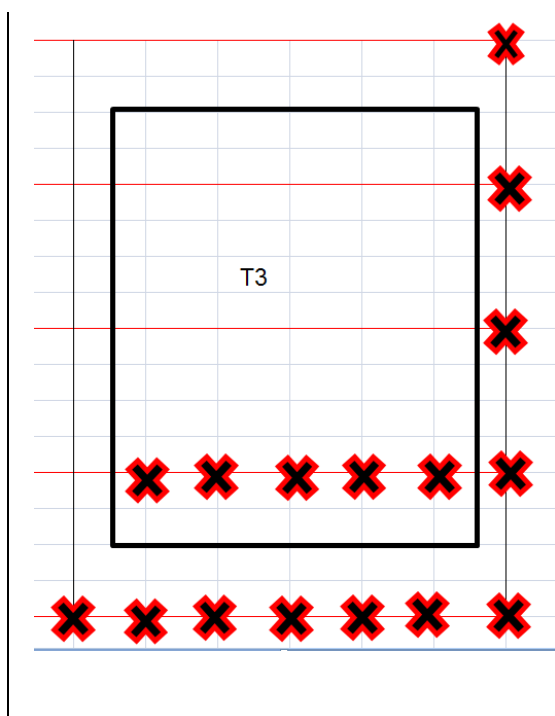
Le sol nu constitue le témoin sans plante. Les placettes sont désherbées manuellement chaque semaine afin de ne pas avoir de couvert végétal comprenant une flore adventice susceptible d'être hôte de *R.solanacearum*. Ce témoin permettra d'évaluer la survie de l'inoculum dans un sol sans PdS.

5.2 DIMENSION DES EXPERIMENTATIONS

Dimension des placettes

	Saint-Pierre	Céron
Largeur placette	4,4m	3,2m
Longueur placette	3,6m	2,4m
Surface placette	15,84m ²	7,68m ²
Dimension totale	424m ²	207m ²

Schéma d'une placette



: Plant de tomates

Les lignes colorées représentent les rangs des tomates.

Le carré « gras » correspond à la zone d'observation

5.3 LES MODALITES DE SEMIS

Les modalités de plantation des tomates sont celles pratiquées par les agriculteurs.

Les densités de semis des graines sur l'essai respectent celles indiquées sur les fiches techniques des PdS (CIRAD).

Voir en annexe n°4 le tableau du dispositif de semis des essais

Avant de lancer la phase 1, on épand de l'engrais pour les PdS.

Les composants et volumes d'engrais en g/placette nécessaires sont calculés selon des valeurs théoriques.

	N	P2O5	K2O
Alliacées	60	140	120
Légumineuses	0	70	80

Les quantités d'engrais pour les PdS et tomate sont joins en annexe n°5

5.4 LE DEROULEMENT DE L'EXPERIMENTATION

La phase 0 représente la culture précédente à l'expérience. Dans notre cas il s'agit d'une parcelle de tomates (M. Lepasteur) et d'une parcelle de pastèques (M. Elisabeth). Un précédent cultural de tomate sensible à *R. solanacearum* nous assure de l'augmentation de l'inoculum et de son homogénéisation sur la parcelle expérimentale.

La phase 1 d'une durée de 70 jours correspond à la période où les plantes de services sont en place, tout comme le témoin tomate cv. Heatmaster. Lors de cette phase le témoin « sol nu » est maintenu sans enherbement.

Les plants de tomate sont observés et permettront de mesurer le taux initial de flétrissement bactérien sur la parcelle expérimentale.

La phase 2 débute à la fin du cycle végétatif des plantes de services, lorsqu'elles sont coupées au ras du collet. Elle correspond à la période de décomposition de ces plantes laissées en mulch à la surface du sol pendant un minimum de 2 semaines (28 jours M. Lepasteur et 14 jours chez M. Elisabeth).

La phase 3 est la période de lecture des résultats, lorsque les tomates sont produites sur toutes les placettes de l'essai selon les mêmes modalités. Les tomates âgées de 2 à 3 semaines (stade 3-4 feuilles) sont transplantées sur chaque placette. Tout comme la phase 1, des observations sont effectuées durant la croissance des plants de tomate (pendant environ 6 semaines).

5.5 MESURE DE L'INCIDENCE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN

L'évaluation s'effectue pendant le suivi des plants de tomate lors des phases 1 et 3.

Les symptômes : Une annotation « 0 » est affectée aux tomates ne présentant aucun symptôme de flétrissement et une annotation « 1 » est affectée aux tomates présentant des symptômes de flétrissement.

Les données sont ensuite enregistrées sous fichier Excel (annexe n°6).

Les 5 premiers plants flétris sont diagnostiqués avec « flash kit ». Le flashkitRs (kit de terrain ImmunoStrip® (AGDIA Biofords) est un test non destructif qui permet de conserver le plant vivant car on ne lui prélève qu'une feuille.

Un isolement bactériologique est réalisé sur quelques plants flétris, au hasard, pour une caractérisation via la multiplex PCR.

En fin d'expérimentation, les plants sans symptôme sont échantillonnés et testés pour la détection de *R.solanacearum* à la base des tiges (isolement bactériologique sur plants sans symptôme).

- L'indice de maladie :

Cet indice reflète une succession de mesures. C'est un rapport entre le nombre de plants flétris sur le nombre total de plants pendant une durée de 70 jours.

Le nombre de plants flétris à l'instant T représente une valeur de la courbe de maladie. Les différentes mesures permettent de visualiser l'évolution de la maladie au cours du temps.

$IFB(T) = \text{nombre de plants flétris à l'instant T} / \text{Nombre total de plants}$
--

Les données sont exprimées en indice de flétrissement IF, puis transformées en $ASINRac(IF)$ pour l'analyse statistique.

- L'indice de colonisation

L'indice de colonisation représente la proportion de plants infestés par l'agent du flétrissement bactérien (cela comprend les porteurs latents).

5.6 MESURE DE BIOMASSE AERIENNE DES PDS.

A la fin de la phase 1, soit environ 70 jours après semis, la biomasse aérienne de chaque parcelle est coupée (au ras du sol) et pesée en poids total frais. Une aliquote d'environ 3-500g (3 plantes entières) est prélevée afin de déterminer la matière sèche totale. La biomasse fraîche restante est ensuite étalée au sol.

5.7 MESURE DE L'INCIDENCE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN

Le suivi de l'indice de flétrissement concerne les plants de tomates. Il se fait pendant la phase 1 et la phase 3 de l'expérimentation. Il concerne uniquement les plants situés au centre du carré (voir schéma ci-dessous). Le suivi ne comprend pas les plants de tomates situés en bordure de la placette car elles sont sujettes à des variations occasionnées par les cultures aux alentours. Les tomates seront observées à raison de 2 fois par semaine.

20 plants de tomate / placette font l'objet du suivi chez M. Louis Lepasteur tandis que 15 plants/ placette font l'objet du suivi chez M. Harris Elisabeth.

5.8 EVALUATION DE L'ACTIVITE MICROBIENNE DU SOL

Des échantillons de sol sont prélevés sur les différentes placettes. Ils permettent d'évaluer l'activité microbienne du sol présente. Au cours de l'essai, deux prélèvements sont effectués.

- un état initial A avant le semis des PdS (échantillon composite, soit un mélange de terre des différentes placettes),
- suite à la fauche des plantes de services au moment de la mise en place des mulchs,

Ces prélèvements consistent en un échantillon composite pour chaque placette. Ils sont composés de 5 à 6 carottes prélevées dans les 10 premiers cm.

Les sachets de terres sont passés au tamis de 5mm afin d'obtenir une terre fine, plus facile à manipuler. Deux petits sachets sont ensuite constitués. Un des sachets est mis au réfrigérateur à 4°C (pour la mesure de l'azote, humidité, arylsulfatase, chitinase et β -glucosidase). L'autre est mis au congélateur en attendant l'analyse en laboratoire des communautés microbiennes (FAME).

Les échantillons constitués aux 2 dates citées précédemment feront l'objet des déterminations suivantes :

- Humidité du sol (séchage à 105°C pendant 48h)
- Azote minéral par extraction au KCl 1M
- Analyse des activités enzymatiques (arylsulfatase, chitinase et β -glucosidase)
- Mesure de la teneur de NH_4 et NO_3

L'échantillon composite constituait à la première date est notre témoin T0. Les échantillons individuels prélevés en fin de cycle végétatif permettent d'observer une évolution de l'activité microbienne suite aux différentes actions des PdS.

Analyse du sol en laboratoire

La qualité d'un sol a été définie selon sa capacité productive et de son ensemble écosystémique (Trasar-Cepeda et al. 1998). Dans le sol on retrouve une population microbienne aux caractéristiques biochimiques et biologiques liées à leurs activités enzymatiques spécifiques (décomposition des matières organiques, catalyseur de processus de minéralisation).

La population microbienne est à l'origine la seule source de toute cette activité enzymatique dans le sol. Cette activité sert donc d'indicateur de la communauté microbienne (Frankenberger and Dick, 1983).

Chaque variabilité enzymatique est associée à une population microbienne qui lui est propre.

Certaines variabilités enzymatiques sont associées à une population microbienne spécifique alors que d'autres représentent l'ensemble de l'activité microbienne du sol.

Dans notre cas, on va quantifier 4 enzymes suite à la culture des plantes assainissantes.

Arylsulfatase

L'arylsulfatase (Aryl) est utilisée pour étudier la minéralisation du soufre organique dans les sols. Cette enzyme représenterait également un sous-groupe de champignons antagonistes des pathogènes telluriques et pourrait de fait être un indicateur de suppressivité. Elle est sensible à la rotation culturale, au labour et à la gestion des résidus de cultures.

β -glucosidase

Le groupe des *β -glucosidases* est une enzyme en quantité importante dans le sol. La β glucosidase (Bglu) est impliquée dans l'étape finale de la dégradation de la cellulose. Cette dégradation fournit d'importantes sources d'énergies glucidiques aux micro-organismes du sol.

Elle met en évidence les apports de matière organique dans le sol et les effets de la gestion du sol (brûlis, fertilisation, labour).

Chitinase

La chitinase concerne la dégradation de la chitine dans les sols. La chitine est un sous-produit issu de la décomposition membranaire des insectes, crustacés et de nombreuses espèces de champignons. La chitine est transformée sous forme de glucide et azote non organique. Cette dégradation se fait par deux hydrolases (la chitinase et la chitobiase). Les bactéries, champignons et les glandes digestives des animaux sont les producteurs de ces deux enzymes.

C'est une des principales sources d'azote minéralisable.

FAME (Fatty Acid Methylated Esters)

FAME identifie et quantifie la communauté microbienne

Pour ces 4 enzymes, on retrouve le même procédé d'analyse, seules quelques étapes diffèrent :

- Pesée des échantillons : Pour chaque traitement, on prélève trois échantillons et un témoin leur est associé. On pèse 1 g de terre fraîche par tube Falcon. Durant toutes les analyses un blanc par série est nécessaire, il contient les mêmes réactifs mais n'a pas de terre.
- Ajout d'un Tampon et d'un substrat propre à l'enzyme. Le flacon est ensuite mis à incubation.
- Une fois l'incubation terminée, la réaction est stoppée. On mesure l'absorbance des solutions placées dans les cuves au spectrophotomètre.
La gamme d'étalon (constitué par la p-nitrophényl- β -D-glucopyranoside) du jour est d'abord mesuré suivi des échantillons.

Partie 4 : Résultats des expérimentations en conditions réelles

6 MISE EN ŒUVRE

Les dates clefs du déroulement de l'expérimentation ont été jointes en Annexe n°7 (chez M. Louis Lepasteur) et Annexe n°8 (chez M. Harris Elisabeth)

Le lancement des expérimentations a pris du retard chez le premier agriculteur (M. Louis Lepasteur). La parcelle n'était pas encore préparée par l'agriculteur. La mise en place du second essai a été retardée suite au désistement de deux agriculteurs.

6.1 ADAPTATION DES MODALITES DE SEMIS

Chez Louis Lepasteur les placettes ont été travaillées par ses soins. Il travaille la terre de façon à obtenir des billons qui lui permettent à cette époque de l'année de retenir l'eau dans les sillons et de s'affranchir de l'irrigation. La largeur des billons est irrégulière et varie entre 30 et 70cm dans une même placette.

Pour l'essai, il est nécessaire d'adapter la placette car il était prévu d'obtenir des billons de 50cm. On se limite à 4 lignes de semis correspondants aux quatre billons au lieu de 5 prévus préalablement. Les dimensions du terrain sont définies en amont du travail de l'agriculteur.

On a planté 3 lignes d'oignons sur les petits billons et 4 oignons sur les grands. On obtient ainsi une densité d'un oignon pour 0.023m^2 quand on ramène à la surface sur billon. On dispose de la même densité qu'à rivière Lézarde.

On a planté une rangée par billon et sillon en ce qui concerne les plantes de services.

Chez monsieur Elisabeth, le terrain est à plat. Les conditions de l'essai en champ expérimental ont été copiées sans aucune modification nécessaire

6.2 GERMINATION DES LEGUMINEUSES ET REPRISE DES OIGNONS

Chez monsieur Lepasteur la transplantation des oignons et des tomates se sont faits sans nécessité de recourage.

C'est le contraire de chez monsieur Elisabeth où une forte sécheresse a eu lieu après les semis. De ce fait, les taux de germination ont été faibles. La reprise des tomates a également été difficile et a engendré des pertes importantes.

Concernant les plants d'oignons, un grand nombre a péri 3 semaines après la plantation..

Malgré le recourage nous avons observé quelques difficultés de levées pour les graines et une reprise difficile des tomates.



Photographie n°5 : photo de *C.spectabilis* se faisant attaqué par *Utetheisa ornatrix* (gauche)
M.deeringiana dévoré par les chenilles. (source personnelle)

7 CONDUITE ET SUIVI DES EXPERIMENTATIONS

7.1. PHASE 1

Durant cette phase, un entretien de désherbage des placettes de tomates, oignons et sol nu est effectué régulièrement sur chacun des essais. Le reste des plantes de services n'est pas désherbé car l'objectif étant de tester leur compétitivité face aux adventices, en conditions réelles. Pour que la plante soit intéressante il faut que l'agriculteur intervienne le moins possible sur le champ.

7.1.1. CHEZ LOUIS LEPASTEUR

Durant la croissance des PdS, on a pu observer d'importants dégâts sur les crotalaires, causés par la chenille *Utetheisa ornatrix* (Linné, 1758) qui a dévasté les parties foliaires des plantes. Elle influe ainsi négativement sur la biomasse aérienne des plantes.(voir : photographie n°5).

On a également observé une 2^{ème} espèce de chenille (Hesperidée) sur *Mucuna deeringiana* qui a également influencé négativement la biomasse aérienne des plantes.

Suivi des symptômes sur Tomate en phase 1 chez Louis Lepasteur

Chez Louis Lepasteur, le suivi symptomatique des tomates s'est déroulé sur la durée entière de la phase 1 (70 jours).

Un premier plant malade est arraché pour être diagnostiqué. Ce plant de tomate est détecté positif au flashkit dans les locaux de la FREDON. Ce plant n'entre pas dans les observations car il se situe en dehors du champ d'observation.

Deux nouveaux plants malades ont également été arrachés et diagnostiqués dans les laboratoires de phytopathologie du PRAM. Ces deux isollements n'ont pas révélé la présence de *R. solanacearum*.

Après plusieurs semaines d'observations on n'observe plus de symptômes de flétrissement.

Les résultats sont donc insuffisants pour considérer la parcelle comme infestée par *R. solanacearum*

Voir en annexe n°9 : Le suivi sous fichier excel des plants de tomates

Aux alentours du 75^{ème} jour après transplantation les tomates ont présenté des symptômes d'infection d'un virus ; en effet les feuilles ont pris la forme du dos d'une cuillère typique du TYLC.

7.1.2 CHEZ HARRIS ELISABETH

Parmi les PdS qui ont germé, on a pu noter une croissance rapide des PdS. Quatre semaines après semis des PdS, on constate que *Mucuna deeringiana* s'est fait concurrencer par les adventices certainement suite aux problèmes de germination initiale.

Aux alentours du 45^{ème} jour après transplantation des tomates on a noté des problèmes de verse suite aux vents (nom attribué aux phénomènes éoliens de fin décembre) sur *Crotalaria juncea*. C'est une plante à port érigé qui mesure jusqu'à 1.50 mètre de hauteur. Elle est donc sensible à la verse.

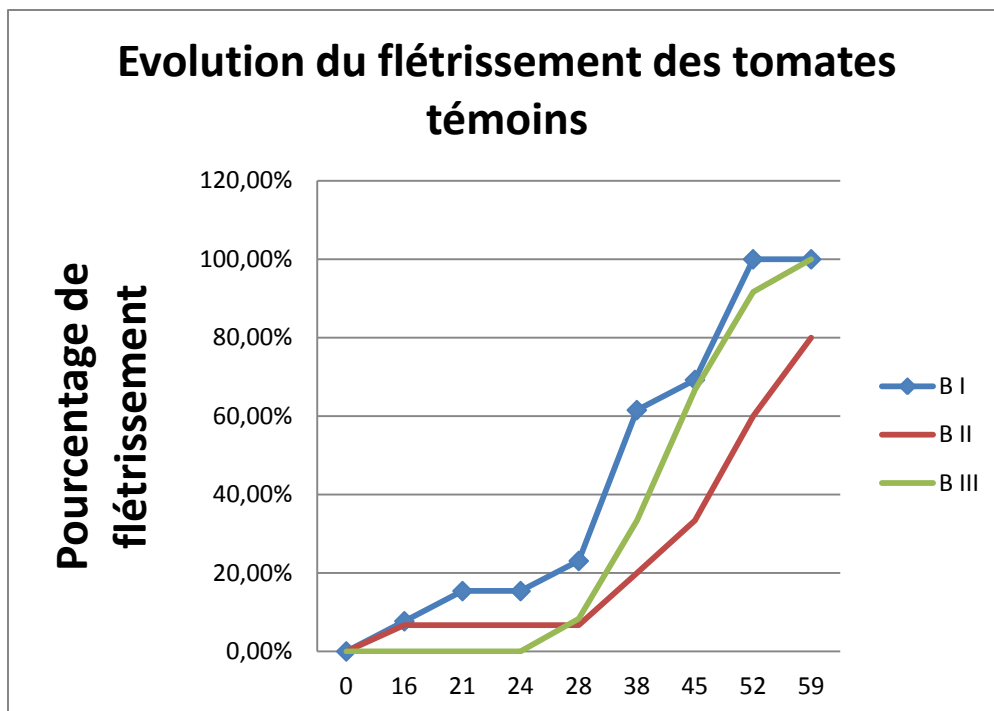


Figure n°6 : Evolution du flétrissement des tomates témoins en champ (données personnelles)

En ce qui concerne la placette d'oignons (Répétition 1), on a observé de petites zones inondées malgré un bon drainage du sol.

Suivi des symptômes sur Tomates en phase 1 chez Harris Elisabeth

Au cours de la phase 1 (phase de croissance des PdS) on a observé de nombreux plants de tomates flétris dans les placettes témoins.

Les premiers plants de tomates flétris en bordures ont été arrachés pour être diagnostiqués directement au PRAM. Ces isollements ont révélé la présence de *R. solanacearum*.

Le suivi du développement de la maladie a permis d'établir une courbe de progression du flétrissement bactérien (Figure n°6).

On observe un développement faible des symptômes jusqu'au 28^{ième} jour après transplantation des tomates. Dès le 28^e jour, La maladie ne cesse d'évoluer pour atteindre 100% de flétrissement bactérien dans les placettes B1 et B3. Au stade 59 JAT, l'indice moyen de maladie atteint 93,3%.

Nos résultats montrent que le sol de la parcelle expérimentale de M. H. Elisabeth présente un potentiel infectieux initial élevé (93,3%).

7.2 PHASE 3

La phase 3 comprend l'étape de suivi de la maladie après transplantation des tomates âgées de deux semaines. Ce suivi se fait pendant 6 semaines minimum. Les tomates constituent l'indicateur biologique de l'efficacité des PdS Cette phase permet de mesurer le potentiel assainissant des différentes plantes de services.

8 BIOMASSE AERIENNE

M Louis Lepasteur

La totalité de biomasse aérienne de chaque PdS sur chaque placette est pesée directement sur le champ sur une balance afin d'obtenir la production de la biomasse fraîche. Elles sont remises sur leur placette respective en mulch. Pour obtenir le taux de matière sèche on a prélevé aléatoirement 5 plantes. On établit le rapport du poids frais sur le poids sec (obtenue après plus de 48heures sous étuve à 65°C jusqu'à poids stable). On obtient ainsi une biomasse sèche en (kg/ha)

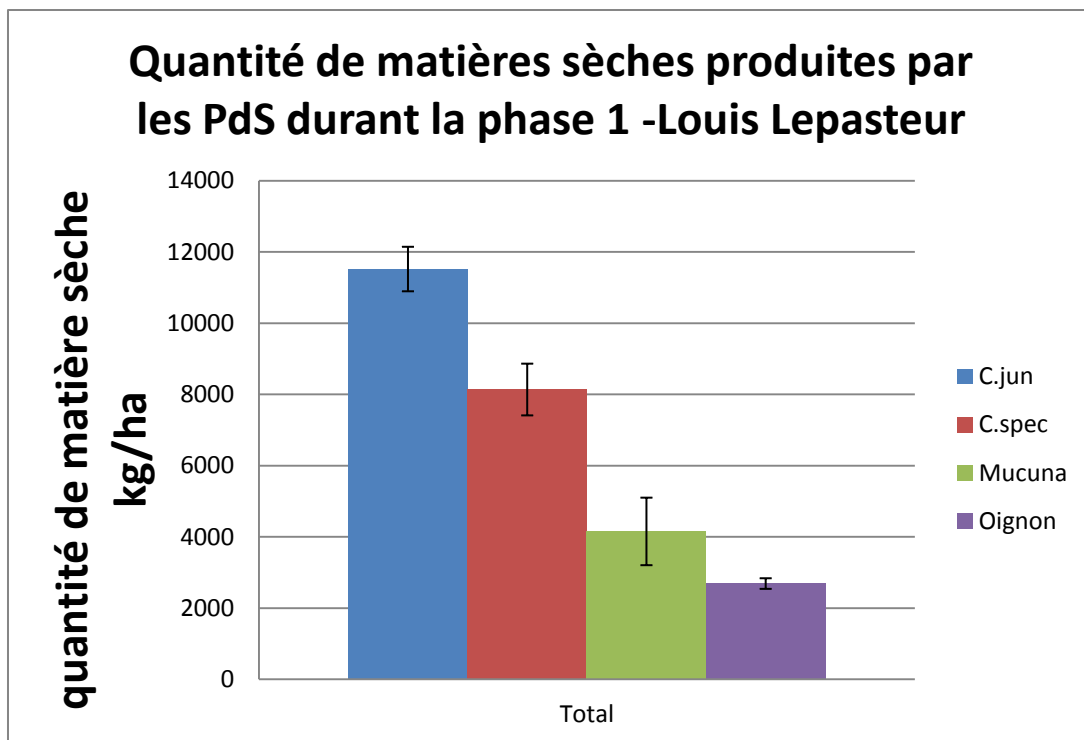


Figure n°7 : Quantité de matières sèches produites par les PdS chez Louis Lepasteur (données personnelles)

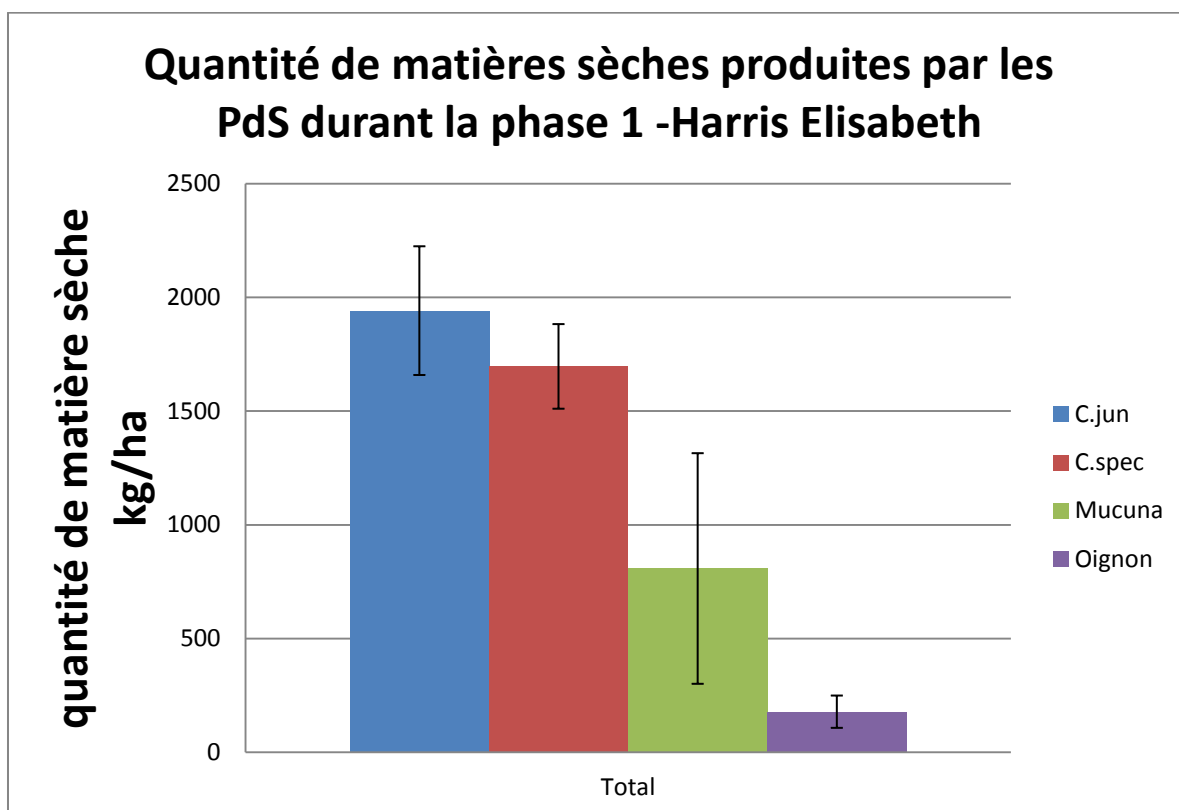


Figure n°8 : Quantité de matières sèches produites par les PdS chez Harris Elisabeth (données personnelles)

C. juncea et *C. spectabilis* présente les meilleures rendements avec près de 12T MS/ha pour la première et 8T MS/ha pour la deuxième. *M. deeringiana* présente un rendement plus faible que les deux crotalaires, 4T MS/ha. Ce rendement est moindre en raison des attaques de chenilles spécifiques à l'espèce. (voir [Figure n°7](#))

A. fistulosum est cultivé pour son bulbe, il est normal que le rendement soit le plus faible. Il atteint un peu plus de 2T MS/ha ce qui est un bon rendement comparé à la taille de l'espèce. (voir [Figure n°7](#))

M Harris Elisabeth

C. juncea et *C. spectabilis* présentent les meilleurs rendements avec près de 2T MS/ha pour la première et 1,7T MS/ha pour la deuxième. *M. deeringiana* présente un rendement plus faible que les deux crotalaires, 0,8T MS/ha. Dans l'ensemble les rendements sont plus faibles que chez le premier agriculteur en raison des attaques de chenilles et de la mauvaise germination des végétaux. (Voir [Figure n°8](#))

A. fistulosum a le rendement le plus faible. Il est inférieur à 0.5T MS/ha. (Voir [Figure n°8](#))

On voit que les résultats sont peu homogènes. L'écart-type des données de biomasse indique d'importants écarts dans les résultats des différentes placettes. Seul *C. juncea* s'est comporté de façon homogène. (voir [Figure n°7](#) et [n°8](#)).

Voir en [annexe n°10](#) : le tableau des pesées de biomasse aérienne chez Louis Lepasteur

9 BILAN DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE ET TENEUR EN AZOTE MINERAL DU SOL

Le suivi de l'état biologique du sol au cours du temps se fait par l'analyse des différentes enzymes et de la teneur en azote minéral du sol.

On répertorie deux dates clefs d'analyses pour chaque agriculteur. Elles sont différenciées car la première a été faite avant la culture des PdS T0 et la seconde après la culture des PdS T1.

Une ANOVA est réalisée suivi d'un test de Tukey pour différencier des groupes de plantes.

A ce jour les analyses n'ont pas été faites pour toutes les enzymes car certaines d'entre-elles furent en rupture de stock.

9.1 ECHANTILLONS LOUIS LEPASTEUR

9.1.1 ECHANTILLONS COMPOSITES T0

1. Bétaglucosidase

Les résultats d'échantillons composites sont présents sur la Figure n°9

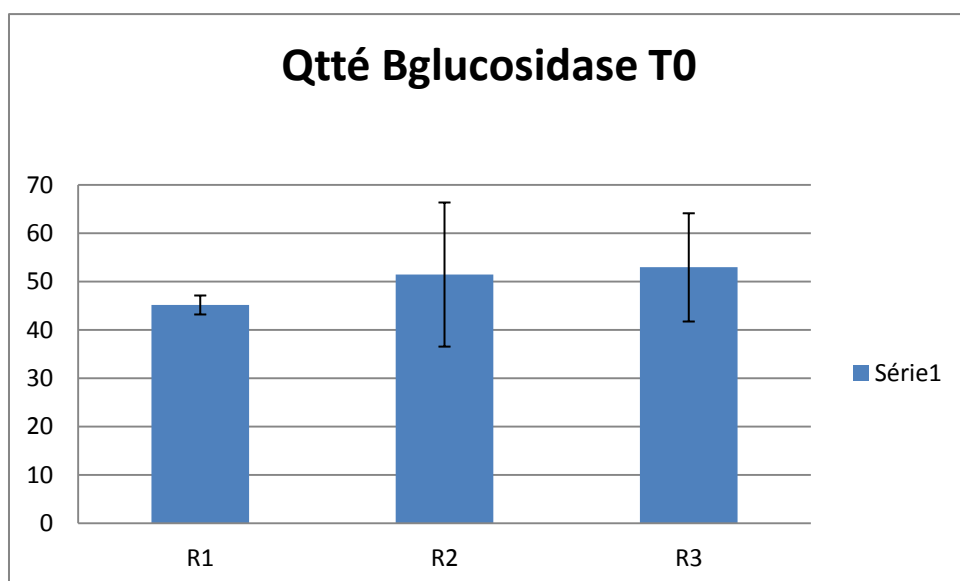


Figure n°9 : Variabilité de l'activité bétaglucosidase à T0 pour les échantillons composites.

L'activité Bétaglucosidase s'exprime en $\mu\text{g pNp h}^{-1}\text{g}^{-1}$

On observe une activité bétaglucosidase homogène, R2 et R3 présente une forte disparité dans les résultats contrairement à R1.

La moyenne des trois répétitions est d'environ $45 \mu\text{g pNp h}^{-1}\text{g}^{-1}$.

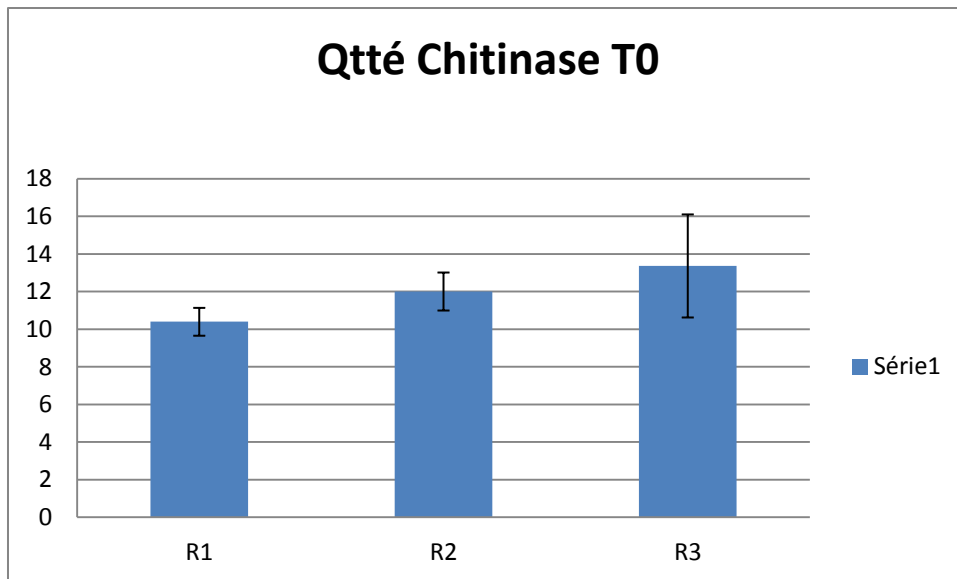


Figure n°10 : Variabilité de l'activité chitinase à T0 pour les échantillons composites. L'activité chitinase s'exprime en µg pNp h⁻¹g⁻¹.

On observe une activité chitinase homogène, R3 présente une forte disparité dans les résultats contrairement à R1 et R2.

La moyenne des trois répétitions est d'environ 11,75 µg pNp h⁻¹g⁻¹.

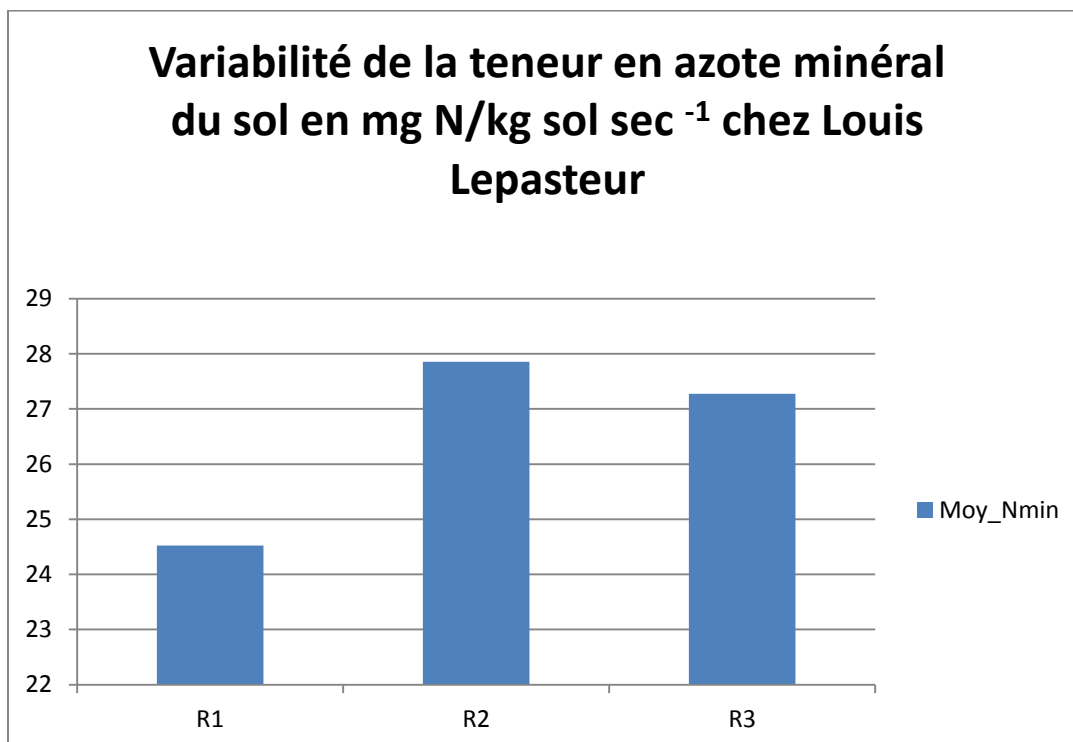


Figure n°11 : Variabilité de la teneur en azote minéral du sol à T0 pour les échantillons composites des répétitions R1, R2 et R3.

On observe un déséquilibre dans la variabilité de la teneur en azote. R2 et R3 sont plus riches en azote que R1. La moyenne des trois répétitions est d'environ 26 mg N/kg sol sec⁻¹.

Toutes ces analyses permettront d'observer un changement de l'état biologique du sol.

9.1.2 ECHANTILLONS APRES LA PHASE 1

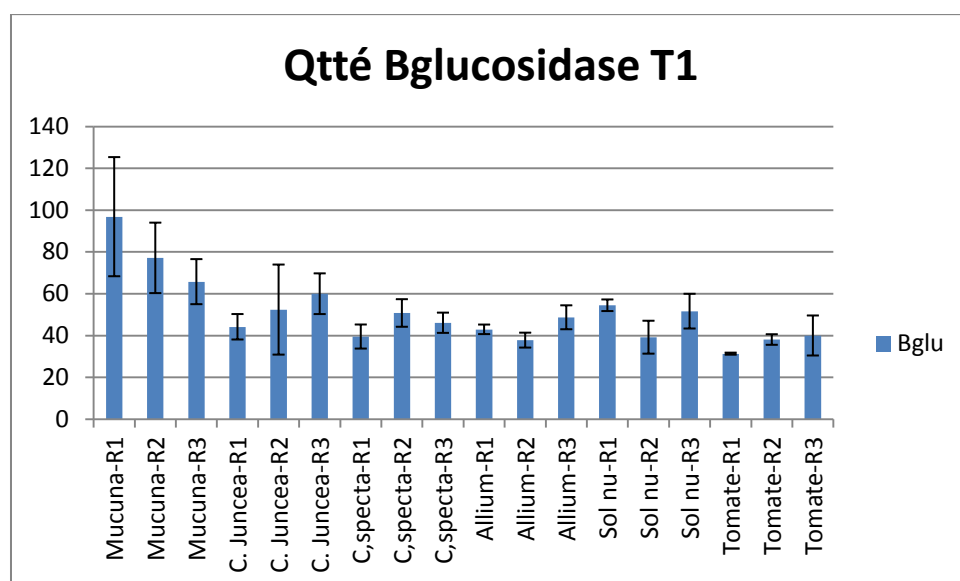


Figure n°12 : Variabilité de l'activité βtaglucosidase à T1 pour les différents traitements de plante de services. L'activité βtaglucosidase s'exprime en $\mu\text{g pNp h-1g-1}$.

On observe sur ce tableau un changement de l'activité βtaglucosidase par rapport à T0.

Il en ressort que *M. deeringiana* est l'espèce qui favorise le plus l'activité βtaglucosidase avec en moyenne $82,69 \mu\text{g pNp h-1g-1}$ suivi de *C. juncea* avec $52,155 \mu\text{g pNp h-1g-1}$.

On observe que les autres espèces ont induit une diminution par rapport à T0.

Modalité	Moyenne estimée	Groupes	
Mucuna	82,696	A	
C. Juncea	52,155	B	
sol nu	48,407	B	C
C. Specta	45,431	B	C
Allium	43,120	B	C
Tomate	36,433		C

Figure n°13 : Test de Tukey à $p < 0.05$ appliqué à la variabilité de l'activité βtaglucosidase à T1 pour les différents traitements de plante de services. Les valeurs de la même colonne ayant des lettres identiques ne sont pas significativement différentes.

Le test de Tukey permet de distinguer des groupes au sein des espèces. L'analyse statistique met en avant deux espèces *C. juncea* et *M. deeringiana*.

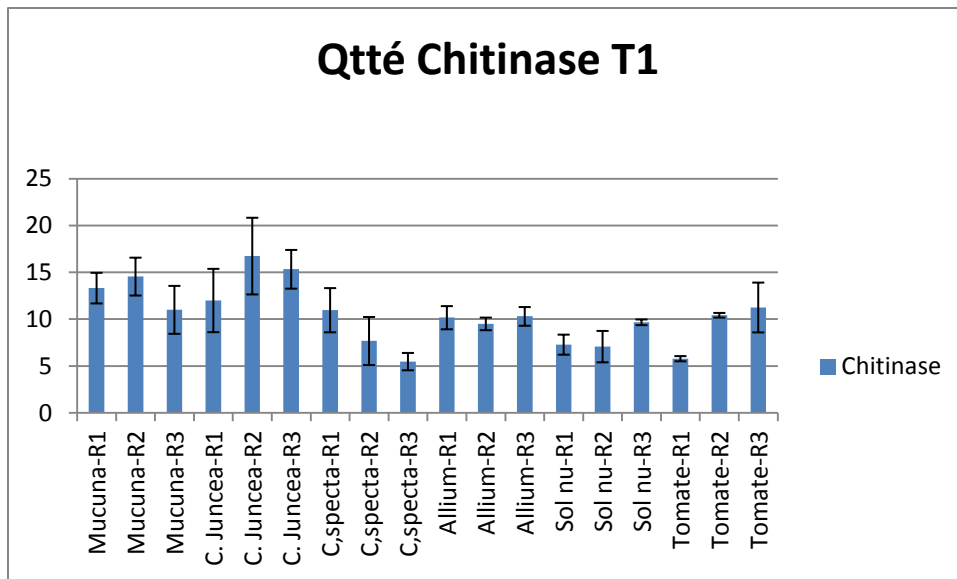


Figure n°14 : Variabilité de l'activité chitinase à T1 pour les différents traitements de plante de services. L'activité chitinase s'exprime en $\mu\text{g pNp h}^{-1}\text{g}^{-1}$.

On observe sur ce tableau un changement de l'activité chitinase par rapport à T0.

Il en ressort que *C. juncea* est l'espèce qui favorise le plus l'activité chitinase suivi de *M. deeringiana* avec 14,699 $\mu\text{g pNp h}^{-1}\text{g}^{-1}$ pour la première et 13,064 $\mu\text{g pNp h}^{-1}\text{g}^{-1}$ pour la deuxième. On observe que les autres espèces ont induit une diminution par rapport à T0.

Modalité	Moyenne estimée	Groupes		
C. Juncea	14,699	A		
Mucuna	13,064	A	B	
Allium	9,997		B	C
Tomate	9,160		B	C
C. Specta	8,043			C
sol nu	8,017			C

Figure n°15 : Test de Tukey à $p < 0.05$ appliqué à la variabilité de l'activité chitinase à T1 pour les différents traitements de plante de services. Les valeurs de la même colonne ayant des lettres identiques ne sont pas significativement différentes.

Le test de Tukey permet de distinguer des groupes au sein des espèces. L'analyse statistique met en avant deux espèces *C. juncea* et *M. deeringiana*.

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
Mucuna	1,823	A
C. Juncea	1,776	A
Allium	1,271	A
sol nu	1,230	A
Tomate	0,985	A

C. Specta	0,901	A
-----------	-------	---

Figure n°16 : Test de Tukey à $p < 0.05$ appliqué à la variabilité de la teneur en NH_4^+ du sol à T1 pour les différents traitements de plante de services. Les valeurs de la même colonne ayant des lettres identiques ne sont pas significativement différentes.

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
C. Specta	5,313	A
sol nu	4,878	A
Mucuna	4,846	A
C. Juncea	4,152	A
Allium	4,146	A
Tomate	3,179	A

Figure n°17 : Test de Tukey à $p < 0.05$ appliqué à la variabilité de la teneur en NO_3^- du sol à T1 pour les différents traitements de plante de services. Les valeurs de la même colonne ayant des lettres identiques ne sont pas significativement différentes.

Les résultats des figures n°16 et n°17 ne sont pas significativement différents mais on note que les légumineuses restituent plus d'azote minérale que l'oignon péyi (*allium*) et les deux témoins. Cela s'explique par la formation de nodosités de ces plantes.

9.2 ECHANTILLONS HARRIS ELISABETH

9.2.1 ECHANTILLONS COMPOSITE T0

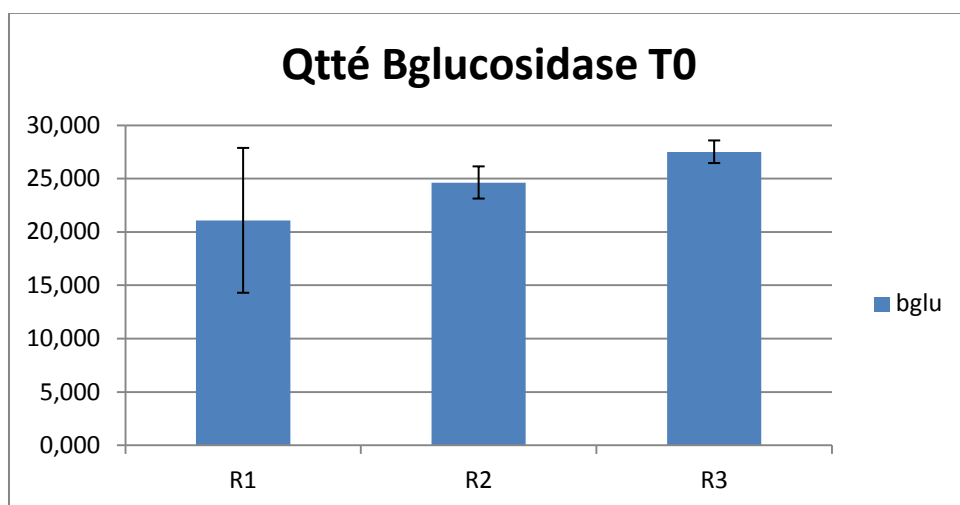


Figure n°18 : Variabilité de l'activité bétaglucosidase à T0 pour les échantillons composites des répétitions R1, R2 et R3. L'activité bétaglucosidase s'exprime en µg pNp h⁻¹g⁻¹

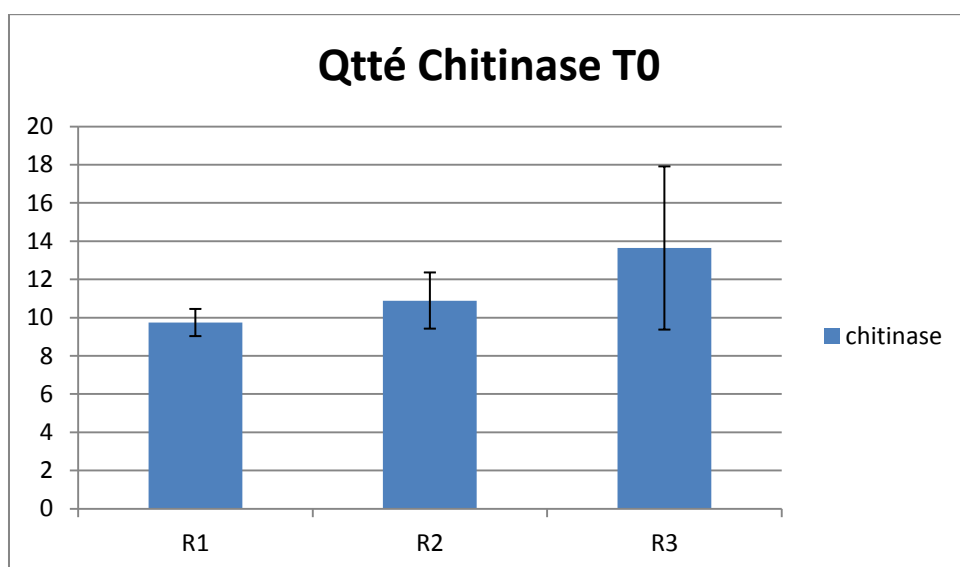


Figure n°19 : Variabilité de l'activité chitinase à T0 pour les échantillons composites des répétitions R1, R2 et R3. L'activité chitinase s'exprime en µg pNp h⁻¹g⁻¹

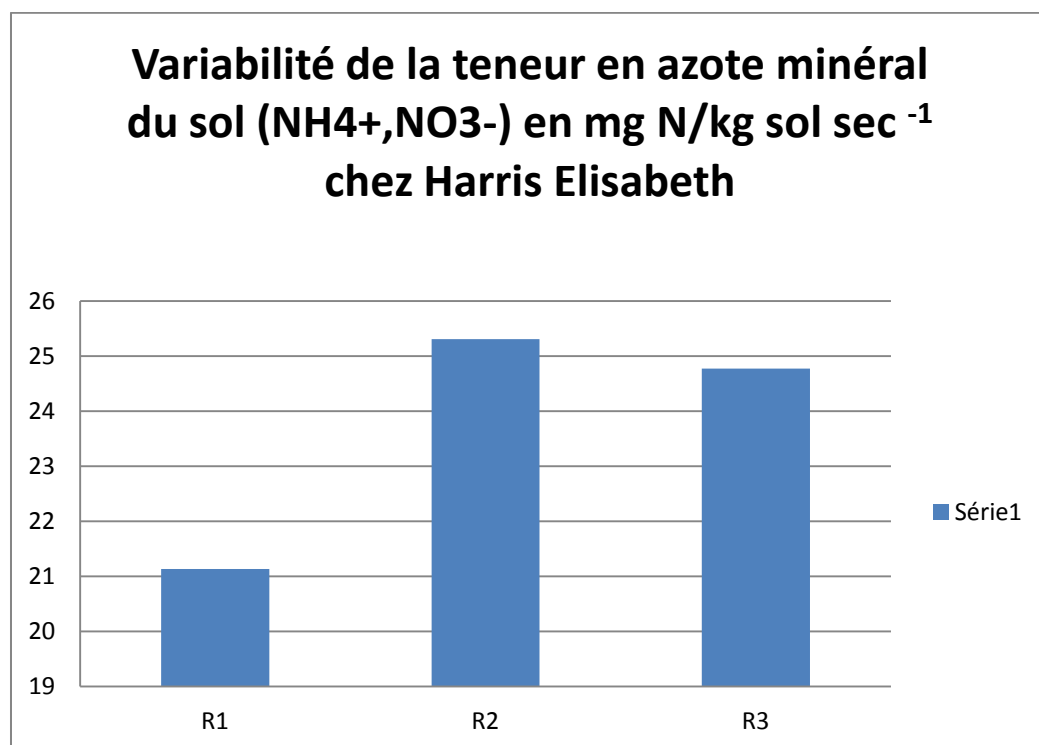


Figure n°20 : Variabilité de la teneur en azote minéral du sol à T0 pour les échantillons composites des répétitions R1, R2 et R3.

10. L'ESSAI BION 50WG

Les expérimentations en conditions réelles ont permis de tester les différentes plantes de services. L'introduction de la diversité végétale spécifique dans les systèmes de culture doit être combinée avec d'autres méthodes afin d'optimiser le contrôle du flétrissement bactérien. Nous avons choisi de tester l'effet d'un activateur naturel des réactions de défense de la plante, le Bion 50WG.

10.1 DEFINITION DU BION 50WG

Le Bion 50WG (Syngenta) est commercialisé pour protéger la production de tomates de plein champ contre les bactérioses (*Pseudomonas syringae* pv.tomato et *Xanthomonas campestris* pv.vesicatoria). Sa substance active est l'acibenzolar-S-méthyl (ASM), un analogue de l'acide salicylique qui est une substance naturellement produite par les plantes et qui initie des réactions de défenses contre divers agresseurs.

10.2 TRAVAUX REPORTES DANS LA LITTERATURE

Anith *et al* (2004) & Pradhanang *et al* (2005) ont montré que l'application de l'ASM augmentait la résistance de la tomate contre *R. solanacearum*. L'application de l'ASM sur les plants de tomates réduit significativement l'incidence du flétrissement bactérien lorsque la concentration de l'inoculum se situe en faible concentration dans le sol, soit entre 10^5 et 10^6 cfu/ml. Les résultats ont été significatifs en conditions de serre (Anith *et al*, 2004) et en champ (Pradhanang *et al*, 2005). Au-delà d'une concentration supérieure à 10^7 CFU/ml l'ASM n'a pas montré d'effet significatif sur l'agent pathogène (Anith *et al*, 2004).

En plus d'avoir un effet sur l'incidence bactérienne, l'ASM induirait une résistance viral et fongique sur différentes plantes (Csinos *et al.*, 2001 ; Benhamou *et al*, 1998 ;Gorlach *et al.*,1996).

Ce produit a également été testé pour évaluer le rendement d'un pied de tomate (taille, nombre de fruits,...). Ce potentiel serait valable sur certaines variétés (Pradhanang *et al.*, 2005).

10.3 MODES D'UTILISATION ET PRECAUTIONS D'EMPLOI

Il se présente sous forme de granulés à disperser dans l'eau. Les doses sont précises, il ne faut pas excéder 0.05kg/ha pour chaque application (correspondant à 0.05 Kg/1000 L d'eau). Selon les recommandations du distributeur, son mode d'application s'effectue par spray directement sur la surface foliaire des plants. Les applications préconisées sont comprises entre 4 pour avoir une efficacité et 6 au maximum. Il faut laisser des intervalles de 7 à 10 jours entre chaque application. Pour la dernière application, il faut laisser un délai de 3 jours avant la récolte des tomates.

Sécurité et recommandation

C'est un produit dangereux pour l'homme et l'environnement. Le port de gants, combinaison intégrale, masque et lunettes sont recommandés lorsqu'on manie le produit.

Classement toxicologique :

- Xi irritant, N-dangereux pour l'environnement, R36/38 (irritant pour les yeux et la peau) R43 (peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau)
- R50/53 Très toxique pour les organismes aquatiques ; peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique Il faut prévoir une zone non traitée de 5 mètres par rapport aux points d'eau.

10.4 EXPERIMENTATION EN SERRE : GESTION DU FLETRISSEMENT BACTERIEN DE LA TOMATE PAR LE BION 50WG

Objectifs : Evaluer l'effet du Bion 50WG, stimulateur de défenses naturelles des plantes, sur le flétrissement bactérien de la tomate, en conditions semi-contrôlées.

11.4.1 MATERIEL ET METHODES

Matériel

Les plantes

Deux variétés de tomate (Tomate cv. Roma/cv. Heatmaster) qui diffèrent par leur niveau de résistance ont été utilisées dans cette étude.

Substrat

Le substrat «Terreau universel (Agrosystem) » est utilisé. Ce substrat a été réparti dans des pots (9x9x9cm; environ 0,5 L.).

R. solanacearum et Inoculation :

On inocule avec la souche Rs « 02-075 » Phyll/seq4NPB.

La concentration de l'inoculum de *R. solanacearum* est titrée à 10^7 cfu/ml. 10mL d'inoculum/500g sol sec sont déposés à la surface du sol, au niveau du collet des plants de tomate, ce qui correspond à environ 2×10^5 cfu/g de sol sec.

Méthodes

Traitements

On procède à 4 traitements pour chaque variété.

Variété/ Traitement	cv. Roma	cv. Heatmaster
Témoin eau-T4&T8	Pas de <i>R.solanacearum</i> , pas de traitement Bion	Pas de <i>R.solanacearum</i> , pas de traitement Bion
Témoin-T3&T8	Témoin positif à <i>R.solanacearum</i> . Pas de traitement de Bion	Témoin positif à <i>R.solanacearum</i> . Pas de traitement de Bion
Hebdomadaire-T6&T8	Inoculation <i>R.solanacearum</i> . Bion à 16 jours après semis, c'est à dire 5 jours avant inoculation. Traitement Bion foliaire 3 jours après inoculation et un traitement Bion foliaire chaque semaine (4 applications foliaires).	Inoculation <i>R.solanacearum</i> . Bion à 16 jours après semis, c'est à dire 5 jours avant inoculation. Traitement Bion foliaire 3 jours après inoculation et un traitement Bion foliaire chaque semaine (4 applications foliaires).
Initial-T1&T5	Inoculation <i>R.solanacearum</i> . Bion à 16 jours après semis, c'est à dire 5 jours avant inoculation. Traitement Bion foliaire 3 jours après inoculation.	Inoculation <i>R.solanacearum</i> . Bion à 16 jours après semis, c'est à dire 5 jours avant inoculation. Traitement Bion foliaire 3 jours après inoculation.

Voir en annexe n°11 : Planning récapitulatif des opérations

11.4.2 DISPOSITIF EXPERIMENTAL

L'expérience est constituée de 8 traitements ; chaque traitement est répété 3 fois. Dans chaque répétition on dispose de 14 pots (14 plants individuels)/ répétition, soient **360 pots (180/ variété)**.

11.4.3 OBSERVATIONS:

- Suivi du développement des symptômes :

On réalise un suivi du développement des symptômes 3 fois/semaine :

Les Lundi, mercredi et vendredi, en début de journée de 0 à 37 JAI (Jours Après Inoculation) selon l'échelle classique :

→ 1 = plante morte, entièrement flétrie ou aux trois quarts flétrie

→ 0 = pas de symptôme

Le nombre de plantes flétries à la date t_k nous permet de d'évaluer l'**incidence de la maladie** à ces mêmes dates et son évolution au cours du temps représenté par la courbe $IFB=f(t_k)$ avec pour chaque date (t_k) :

$$IFB(t_k) = \text{nb de plantes flétries à la date } t_k / \text{nb de plantes totales}$$

Les données des indices de flétrissement à différentes dates nous permettent d'évaluer la **sévérité de la maladie** à ces mêmes dates et son évolution au cours du temps représentée par la courbe $AUDPC=f(t)$ avec pour chaque date t_k :

$$AUDPC(t_k) = \sum_{i=0}^{k-1} (IFB_i + IFB_{i+1})(t_{i+1} - t_i)/2$$

- Isolements microbiologiques :

A 31 JAT, à la base des tiges, sur tous les plants sans symptômes, pour repérer les infections latentes.

Méthodologie : extractions de *R.solanacearum* sur base de tiges

A l'aide d'un scalpel stérilisé, des sections de tiges de 2-3cm sont coupées à 1cm environ au dessus du niveau du sol, puis plongées dans de l'alcool à 90% avant d'être enflammées. Les sections sont finement broyées dans 5ml de tampon Tris (ou d'eau distillée) et laissées reposer 15-20 minutes. Le surnageant est ensuite étalé en 3 secteurs sur milieu SMSA modifié en boîte de pétri. Les boîtes sont alors mises à incuber pendant 3 jours à 28°C.

- On en déduit un **indice de colonisation bactérienne** (ICB)

$ICB = (\text{nb de plants flétris à 28 JAT} + \text{nb de plants colonisés à 28 JAT}) / \text{nb total de plants.}$
--

11.4.4 Résultats

Les indices de flétrissement bactérien (IFB) exprimés en % de plants flétris ont été transformés en arc sinus (racine(IFB)) sur Excel afin de normaliser les données.

Les données transformées sont ensuite soumises à un test dit Q-Q plot pour tester la normalité des échantillons. Les échantillons suivent une loi normale au vue de la droite Q-Q plot.

Une analyse ANOVA classique et un test de comparaison des moyennes ont été lancés. Un test d'homogénéité des variances à posteriori a été réalisé. Les résultats de ce test montrent que les variances sont identiques ; Nous pouvons donc réaliser un test paramétrique.

Analyse de la variance :					
Source	DDL	omme des car	enne des ca	F	Pr > F
Modèle	21	26,109	1,243	84,912	< 0,0001
Erreur	194	2,841	0,015		
Total corrigé	215	28,950			
Calculé contre le modèle $Y = \text{Moyenne}(Y)$					

Analyse Type III Sum of Squares :					
Source	DDL	omme des car	enne des ca	F	Pr > F
Nb JAI	11	24,270	2,206	150,686	< 0,0001
variété	1	0,312	0,312	21,309	< 0,0001
Traitement	2	0,229	0,115	7,827	0,001
Nb JAI*variété	11	0,216	0,020	1,342	0,204
Nb JAI*Traitement	22	0,592	0,027	1,839	0,016
variété*Traitement	2	0,730	0,365	24,919	< 0,0001

L'effet bloc a été testé. On obtient une plus-value inférieure au F de Fisher, ce qui signifie qu'il n'y a aucun effet bloc. On peut traiter les données de chaque répétition de façon identique. Le comportement des tomates de chaque traitement est similaire.

Le nombre de jours après inoculation (Nb de JAI) est hautement significatif ;

L'effet variété est également hautement significatif ;

Le traitement est significatif ;

Les résultats montrent qu'il existe des interactions Variété*Traitement (Hautement significatif) et Nb JAI*Traitement significatives.

variété / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% :						
Contraste	Différence	Erreur standard	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif	
Heatmaster vs Roma	-0,076	-4,616	1,972	< 0,0001	Oui	
Valeur critique du d de Tukey :			2,789			
Modalité	Moyenne estim	Groupes				
Heatmaster	0,419	A				
Roma	0,495		B			

Les résultats de l'analyse statistique montrent que l'incidence du flétrissement bactérien est significativement différente entre les deux variétés Heatmaster et Roma. L'incidence de maladie est la plus élevée sur la variété Roma.

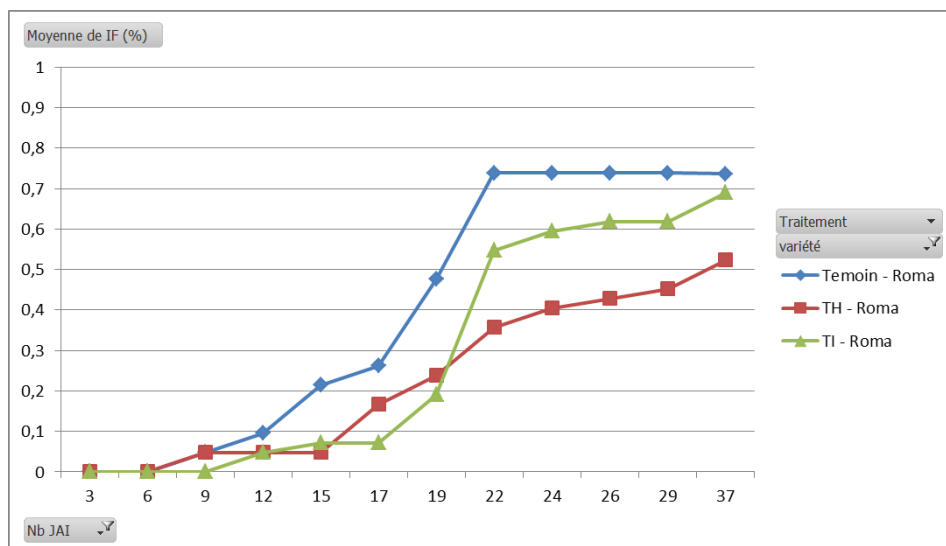


Figure n°21 : Evolution de l'indice de flétrissement des tomates Heatmaster en serre (données personnelles)

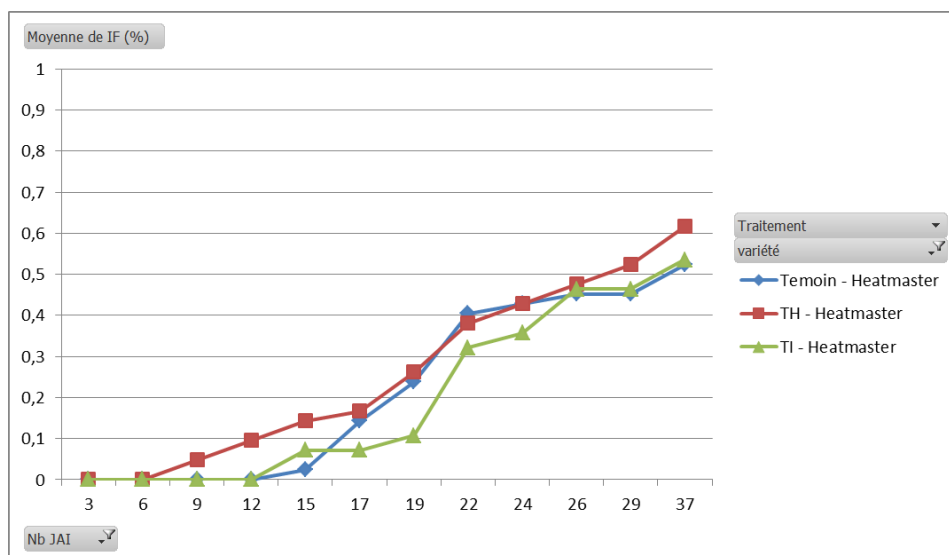


Figure n°22 : Evolution de l'indice de flétrissement des tomates Heatmaster en serre (données personnelles)

Le test de Tukey nous montre une différenciation dans le comportement des deux variétés faces à *R.solanacearum* ; Les résultats seront donc analysés séparément pour les variétés Roma et Heatmaster.

Cette figure nous permet d'apprécier l'efficacité du produit BION 50WG sur une espèce dite sensible à la bactérie. (voir figure n°9)

On note que le pic de croissance de la bactérie au sein des plants de tomates se fait à différents moments selon les traitements.

Ce pic de croissance est agressif et se fait dès le 6^{ième} JAI pour le témoin tomate.

On note que les pics de croissance de la bactérie se font plus tard pour les traitements hebdomadaires et initiaux que le traitement témoin.

On observe une légère diminution du pic TH de flétrissement entre le 9^{ième} et 15^{ième} JAI et dans l'ensemble du suivi l'infection se fait moins agressive.

Les tomates ayant été traitées initialement (TI) au Bion 50WG ont un seuil de flétrissement proche des tomates témoins à 37JAI. Ce résultat n'est pas intéressant car aucune diminution significative de flétrissement n'a pu être observé.

C'est le contraire pour le traitement hebdomadaires (TH) des tomates.

La différence des observations de TH et du témoin tomate n'est pas négligeable. On a une diminution de l'infection des tomates à hauteur de 20% à 37JAI.

La figure n°10 nous permet d'apprécier l'efficacité du produit BION 50WG sur une espèce dite tolérante à la bactérie.

On note un pic de croissance de la bactérie au sein des plants de tomates témoin et initial aux environs du 17^{ième} jours après inoculation.

On observe une légère diminution du pic TI de flétrissement entre le 15^{ième} et 17^{ième} JAI.

L'infestation des tomates (TH) est constante au cours du temps et se fait plus tôt que les autres traitements.

Les tomates(TH) ont un seuil d'infestation maximale (proche de 60%) bien au-delà de celui des tomates témoins (50%).

Le produit BION n'est pas intéressant pour cette variété. On se demande si le produit 50 WG n'a pas eu l'effet inverse attendu.

Résultats obtenus pour la variété Roma :

L'analyse statistique est réalisée sur les données enregistrées à 37JAI.

Statistiques descriptives :							
Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Asin(rac(IFB))	9	0	9	0,715	1,187	0,944	0,139
Test de Shapiro-Wilk (Asin(rac(IFB))) :							
W	0,959						
p-value	0,791						
alpha	0,05						
Interprétation du test :							
H0 : La variable dont provient l'échantillon suit une loi Normale.							
Ha : La variable dont provient l'échantillon ne suit pas une loi Normale.							
Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil alpha=0,05, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 79,06%.							

Les résultats montrent que la variable est distribuée selon une loi normale

Test de Bartlett / Test bilatéral (IF (%)) :							
Khi ² (Valeur	0,207						
Khi ² (Valeur	5,991						
DDL	2						
p-value (unil	0,902						
alpha	0,05						
Interprétation du test :							
H0 : Les variances sont identiques.							
Ha : Au moins l'une des variances est différente d'une autre.							
Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil alpha=0,05, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 90,19%.							

Les résultats montrent que les variances sont identiques.

Analyse de la variance :							
Source	DDL	mmme des car	enne des ca	F	Pr > F		
Modèle	2	0,086	0,043	3,832	0,085		
Erreur	6	0,068	0,011				
Total corrigé	8	0,154					
Calculé contre le modèle Y=Moyenne(Y)							

Traitement / Fisher (LSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% :						
Contraste	Différence	Erreur standard	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif	
TH vs Témoin	-0,230	-2,653	2,448	0,038	Oui	
TH vs TI	-0,174	-2,010	2,448	0,091	Non	
TI vs Témoin	-0,056	-0,643	2,448	0,544	Non	
Modalité	Moyenne	Groupes				
TH	0,809	A				
TI	0,983	A	B			
Témoin	1,039		B			

Selon le test de Fischer (LSD), l'incidence de flétrissement bactérien dans le traitement BION 50WG TH est significativement réduite en comparaison au traitement témoin (sans application de Bion 50WG).

En revanche, les résultats de l'analyse montrent que l'incidence de flétrissement bactérien dans le traitement BION 50WG TI n'est significativement réduite en comparaison au traitement témoin,

Résultats obtenus pour la variété Heatmaster :

L'analyse statistique est réalisée sur les données enregistrées à 37JAI.

Test de Shapiro-Wilk (Asin(rac(IFB))) :					
W	0,934				
p-value	0,518				
alpha	0,05				
Interprétation du test :					
H0 : La variable dont provient l'échantillon suit une loi Normale.					
Ha : La variable dont provient l'échantillon ne suit pas une loi Normale.					
Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification :					
Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 51,78%.					

Test de Bartlett / Test bilatéral (Asin(rac(IFB))) :					
Khi ² (Valeur	0,580				
Khi ² (Valeur	5,991				
DDL	2				
p-value (unil	0,748				
alpha	0,05				
Interprétation du test :					
H0 : Les variances sont identiques.					
Ha : Au moins l'une des variances est différente d'une autre.					
Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification :					
Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 74,82%.					

Traitement / Fisher (LSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle d					
Contraste	Différence	ence standar	aleur critique	Pr > Diff	Significatif
Temoin vs TH	-0,096	-0,858	2,448	0,424	Non
Temoin vs TI	-0,013	-0,117	2,448	0,911	Non
TI vs TH	-0,083	-0,741	2,448	0,487	Non
Modalité	Moyenne	Groupes			
Temoin	0,809	A			
TI	0,822	A			
TH	0,905	A			

Selon le tes de Fischer (LSD), l'incidence de flétrissement bactérien dans les traitement BION 50WG TH & TI n'est pas significativement différente en comparaison à celle du témoin (sans application de Bion 50WG).

Synthèse des résultats obtenus en fin d'expérimentation :

Les résultats des Indices de flétrissement IF (%) et indices de colonisation IC (%) en fin d'expérimentation (37JAI) sont présentés dans la figure ci-dessous ;

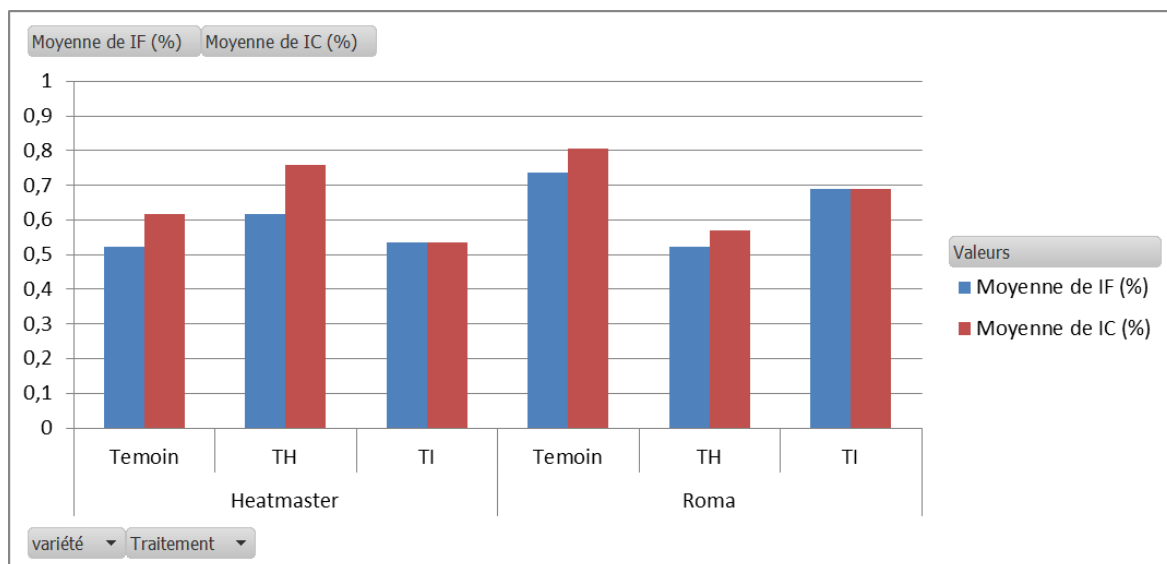


Figure n°23 : Evolution de l'indice de flétrissement et de l'indice de colonisation des tomates en serre(données personnelles)

Aucune interprétation ne peut être prise au vue des observations. On observe peu de différences entre l'IC et l'IF.

CONCLUSION

Les résultats obtenues à ce stade des essais au champs ont mis en avant la variété *C. Juncea* et *M. deeringiana*. La première a la plus importante biomasse et s'est comporté le mieux face aux facteurs extérieurs.

Toutes deux ont favorisé le plus l'activité enzymatique et restitué le plus d'azote minéral.

Il faut attendre les résultats de la troisième phase pour tirer d'avantages de conclusion.

Le Bion 50WG a un effet significatif sur la réduction de l'incidence du flétrissement bactérien sur le cultivar Roma tandis qu'aucun effet significatif Bon 50 WG a été mis en évidence sur le cultivar Heatmaster.

Dans un 1^{er} temps, il faudrait répéter l'expérience pour valider ces résultats.

Dans un 2nd temps il faudrait tester l'effet du Bion 50WG en conditions réelles sur une gamme plus large de cultivars commerciaux de tomate.

Si les résultats obtenus en conditions réelles confirment les résultats obtenus en serre, il serait intéressant d'étudier la combinaison des plantes assainissantes et BION 50WG sur l'incidence du flétrissement bactérien de la tomate.

Partie 5: Bibliographie

Article électronique

- Dynamique agricole de la Martinique, 2005, source agreste
- <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr/en-region/martinique/#region790>
- Programme de développement rural, Décembre 2010, source BRLI
http://ec.europa.eu/agriculture/rurdev/countries/fr/mte-retp-fr-martinique_en.pdf
- Utilisation des sols en Martinique, 2010, source SRISE

http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?reg_id=23&ref_id=agrtc10201

- Itinéraire technique de la tomate en Martinique, chambre d'agriculture martinique, Décembre 2007
http://www.martinique.chambagri.fr/fileadmin/ca972/service/Fiches_techniques/Tomate_07.pdf
- Nouvelle technologie pour la production tomates
<http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/12-121B-Martinique-tomates.pdf>
- Analyse du risque phytosanitaire, P.Prior/Inra, Juillet 2003 p.8

<http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/BAN-b1.pdf>

ituation de la tomate en Martinique vis-à-vis du flétrissement bactérien et des bégomovirus, T.Ovarbury, 2006 p.2

http://tice.agrocampus-ouest.fr/file.php/126/actualites-phyto-des_regions/martinique/_Point_Fede7.pdf

Carte Pluviométrie (Pluie annuelle) en Martinique, 2010, source Observatoire de l'eau de la Martinique

<http://www.observatoire-eau-martinique.fr/leau-en-martinique/le-climat-1/le-climat>

Objectif du Cirad

http://www.cirad.fr/ur/hortsys/projet_de_recherche/fonctionnement_agroecologique/les_plantes_de_service_et_gestion_agroecologique

variété résistante-Heatmaster

<http://www.iflexsenegal.org/ref/REFERENTIEL%20QUALITE/3322cahierPPItomate.pdf>

Rotation de culture

<http://cipotato.org/Training/Materials/Bacterial/Bacterial3.PDF>

Livre

How complex is the « *Ralstonia solanacearum* species complex?» Fegan, Prior, 2005, In Allen Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex, p.449-461

Article scientifique

A.Cariglia, février 2007, lute préventive contre le flétrissement bactérien en culture de tomate hors sol, p.7

Anith, K.N ., Momol, M. T., Kloepper, J.W., Marois, J.J., Olson, S.M., and Jones, J.B. 2004. « Efficacy of plant growth-promoting rhizobacteria, acibenzolar-S-methyl, and soil amendment for integrated management of bacterial wilt on tomato” Plant Dis. 88:669-673

Benhamou, N., and Belanger, R.R. 1998. Benzothiadiazote-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum*.f.sp. *radicislycopersici* in tomato.” Plant Physiol. 118:1203-1212.

Cadet P, Prior P, Steva H, 17 avril 1991, Influence de Meloidogyne arenaria sur la sensibilité de deux cultivars de tomates à Pseudomonas solanacearum (EJ. Smith) dans les Antilles françaises.

Csinos, A.S., Pappu, H.R., McPherson, R.M., and Stephenson, M.G. 2001 Management of *tomato spotted wilt virus* in flue-tobacco with acibenzolar-S-methyl and imidacloprid.” Plant Dis. 85:292-296

DEBERDT P, PERRIN B, CORANSON-BEAUDU R, DUYCK PF, WICKER E. 2012. Effect of Allium fistulosum Extract on Ralstonia solanacearum Populations and Tomato Bacterial Wilt. *Plant Disease*, 96 : 687-692.

Digat, B., and A. Escudié. 1967. Reconnaissance du flétrissement bactérien des Solanées aux Antilles Françaises. *Phytiatrie-Phytopharmacie*. 16:187-197.

Emmanuel Wicker, Laurence Grassart, Régine Coranson-Beaudu, Danièle Mian, Caroline Guilbaud, Mark Fegan et Philippe Prior, 2007, *Ralstonia solanacearum* Strains from Martinique (French West Indies) Exhibiting a New Pathogenic Potential, 24 Août 2007

FERNANDES P, DEBERDT P, CHAVE M, DIEDHIOU S, MINATCHI S, CORANSON-BEAUDU R, GOZE E. 2012. Des plantes assainissantes candidates pour réduire le flétrissement bactérien de la tomate dans les conditions de la Martinique. *Les Cahiers du PRAM* 11, p.27-30.

Fiche technique allium fistulosum : Antimicrobial activities of sulfur compounds derived from S-alk(en)yl-L-cystéine sulfoxide in Allium and Brassica, Kyung K.H. et Lee Y.C, *Foods Reviews International*, 2001, Vol 17, 183-198

Gorlach, J., Volrath, S., Knaufbeiter, G., Hengy, G. Beckhove, U., Kogel, K.h., Oostendorp, M., Staub, T., Ward, E., Kessmann, H., and Ryals, J. 1996. “Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell* 8:629-643.

Johanna Dina Terblanche, 2007 « biological control of bacterial wilt in tobacco caused by *ralstonia solanacearum* » p47-50

Poussier S, Prior P, Luisetti J, Hayward C, Fegan M, Dec 2000, Partial sequencing of the hrpB and endoglucanase genes confirms and expands the known diversity within the *Ralstonia solanacearum* species complex.

P.Prior, juillet 2003, Analyse du Risque Phytosanitaire

Pradhanang, P.M., Ji, P., Momol, M.T., Olson, S.M., Mayfield, J.L, Jones, J.B., 2005 Application of acibenzolar-S-methyl enhances host resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum*. Plant Dis. 89, 989-993

O.S. Adebayo, A.A Kintomo, H.Y. Fadamiro, 5 mars 2009 « Control of Bacterial Wilt Disease of Tomato Through Integrated Crop Management Strategies” p96-105

Rémi Asensio, Sonia Minatchi, Raphaël, Paula Fernandes, cahier du PRAM 08, L’activité enzymatique, un indicateur simple et fiable pour prévoir l’impact des pratiques culturales sur la qualité des sols p.27-29

Tajul MD Islam, Koki Toyota, 21 avril 2004 « Suppression of Bacterial Wilt of Tomato by *Ralstonia solanacearum* by Incorporation of Composts in Soil and Possible Mechanisms »

Vincent V. Michel and T. W. Mew , 7 Décembre 1997 « Effect of a Soil Amendment on the Survival of *Ralstonia solanacearum* in Different Soils » p 300

Liste des figures et tableau

Figure n°1 : Répartition en % des différents types de production agricoles en Martinique en 2009. (Source INSEE)

Figure n°2 : Evolution des différents types de production agricoles en Martinique en ha de 1981 jusqu'à 2010 (Source INSEE)

Tableau n°1 : Prix annuel moyen observé de la tomate (source agriculture.gouv, DAF)

Figure n°3 : Répartition géographique des différentes souches de *ralstonia* en Martinique datant de 2005 (Source Wicker et al, 2005)

Figure n°4 : Classification des différentes souches *R.solanacearum*

Figure n°5 : pédologie simplifiée de la Martinique (Source IRD)

Figure n°6 : Evolution du flétrissement des tomates témoins en champ (données personnelles)

Figure n°7 : Quantité de matières sèches produites par les PdS chez Louis Lepasteur (données personnelles)

Figure n°8 : Quantité de matières sèches produites par les PdS chez Harris Elisabeth (données personnelles)

Figure n°9 : Variabilité de l'activité bêtaglucosidase à T0 pour les échantillons composites des répétitions R1, R2 et R3. L'activité Bêtaglucosidase s'exprime en $\mu\text{g pNp h}^{-1}\text{g}^{-1}$

Figure n°10 : Variabilité de l'activité chitinase à T0 pour les échantillons composites des répétitions R1, R2 et R3. L'activité chitinase s'exprime en $\mu\text{g pNp h}^{-1}\text{g}^{-1}$.

Figure n°11 : Variabilité de la teneur en azote minéral du sol à T0 pour les échantillons composites des répétitions R1, R2 et R3.

Figure n°12 : Variabilité de l'activité bêtaglucosidase à T1 pour les différents traitements de plante de services. L'activité bêtaglucosidase s'exprime en $\mu\text{g pNp h}^{-1}\text{g}^{-1}$.

Figure n°13 : Test de Tukey à $p < 0.05$ appliqué à la variabilité de l'activité bêtaglucosidase à T1 pour les différents traitements de plante de services. Les valeurs de la même colonne ayant des lettres identiques ne sont pas significativement différentes.

Figure n°14 : Variabilité de l'activité chitinase à T1 pour les différents traitements de plante de services. L'activité chitinase s'exprime en $\mu\text{g pNp h}^{-1}\text{g}^{-1}$.

Figure n°15 : Test de Tukey à $p < 0.05$ appliqué à la variabilité de l'activité chitinase à T1 pour les différents traitements de plante de services. Les valeurs de la même colonne ayant des lettres identiques ne sont pas significativement différentes.

Figure n°16 : Test de Tukey à $p < 0.05$ appliqué à la variabilité de la teneur en NH_4^+ du sol à T1 pour les différents traitements de plante de services. Les valeurs de la même colonne ayant des lettres identiques ne sont pas significativement différentes.

Figure n°17 : Test de Tukey à $p < 0.05$ appliqué à la variabilité de la teneur en NO_3^{--} du sol à T1 pour les différents traitements de plante de services. Les valeurs de la même colonne ayant des lettres identiques ne sont pas significativement différentes.

Figure n°18 : Variabilité de l'activité bêtaglucosidase à T0 pour les échantillons composites des répétitions R1, R2 et R3. L'activité bêtaglucosidase s'exprime en $\mu\text{g pNp h}^{-1}\text{g}^{-1}$

Figure n°19 : Variabilité de l'activité chitinase à T0 pour les échantillons composites des répétitions R1, R2 et R3. L'activité chitinase s'exprime en $\mu\text{g pNp h}^{-1}\text{g}^{-1}$

Figure n°20 : Variabilité de la teneur en azote minéral du sol à T0 pour les échantillons composites des répétitions R1, R2 et R3.

Figure n°21 : Evolution de l'indice de flétrissement des tomates Heatmaster en serre (données personnelles)

Figure n°22 : Evolution de l'indice de flétrissement des tomates Heatmaster en serre (données personnelles)

Figure n°23 : Evolution de l'indice de flétrissement et de l'indice de colonisation des tomates en serre (données personnelles)

Listes des photographies

Photographie n°1 : *Allium fistulosum* (photo personnelle)

Photographie n°2 : *Mucuna deeringiana* (photo personnelle)

Photographie n°3 et 4 : *Crotalaria spectabilis* (à gauche) *Crotalaria juncea* (à droite) (photo personnelle)

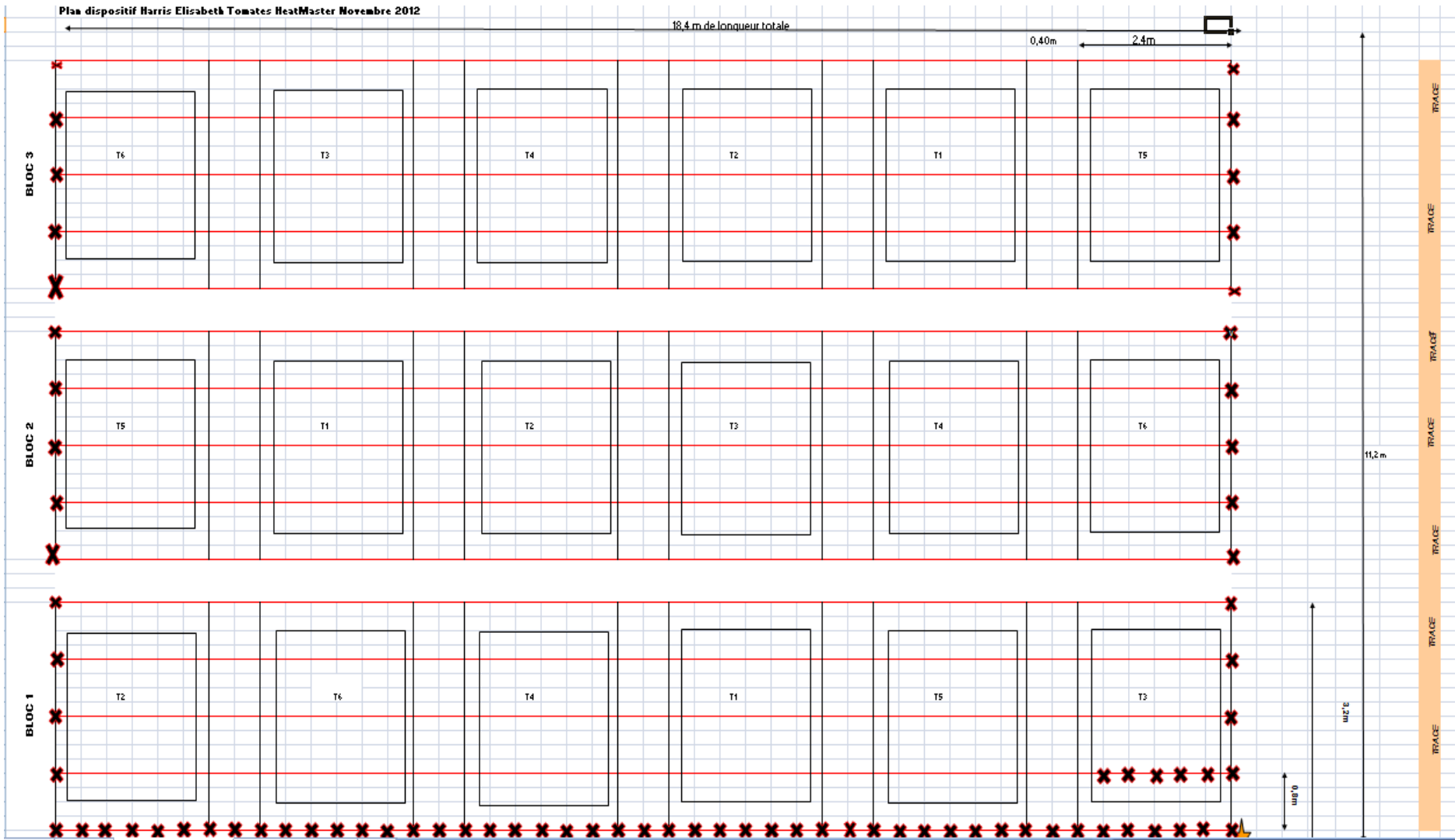
Photographie n°5 : photo de *C. spectabilis* se faisant attaquer par *Utetheisa ornatrix* (gauche) *M. deeringiana* dévoré par les chenilles. (source personnelle)

Partie 6: Annexes

	Plante	MULCH
Cycle long (70 jours) – CL	<i>Mucuna deeringiana</i>	T1
	<i>Crotalaria juncea</i>	T2
	<i>Crotalaria spectabilis</i>	T3
	<i>Allium fistulosum</i>	T4
	Sol nu	T5
	Tomate	T6

Annexe n°1 : Tableau des identifiants

Annexe n°2 : Dispositif parcellaire de l’essai chez Louis Lepasteur



Annexe n°3: Dispositif parcellaire de l’essai chez Louis Lepasteur

Lepasteur Harris	Entre rangs (cm)		Espacement sur le rang (cm)		Nombre de graines/ml		nb lignes /Billon	Nombre de graines/ 3,60m= par sachet	Nombre de graines/ 2,40m	Nombre total de graines par placette		Nombre total de graines	
Oignon pays-Petit billon	10	20	22	12	4,4	8,33	3	16	20	314	340	942	1020
Oignon pays-Grand billon (70cm)	10		13		7,7		4	28					
Mucuna(singapour)	55	40	11,04	15	8,77	6,6	1	32	32	224	288	672	864
Crotalaria juncea (Brésil)	55	40	3,6	4,8	27,7	20,8	1	100	50	700	450	2100	1350
Crotalaria Spectabilis	55	40	2,7	3,6	36,8	27,5	1	133	66	931	594	2793	1782
tomate	110	80	60	40	1,6	2,5	1	7	6	28	35	84	105
Sol nu													

Annexe n°4 le tableau du dispositif de semis des essais

Quantité d'engrais pour les plants de services lors de la mise en place de l'essai

Dose / 15,84m² Dose/7,68m²	Guano(6-3-9) (g)	Sulpomag (g)	Phosphate naturel (g)	nombre de sachets à preparer
Alliacée	1584	792	12,7	3
	768	384	0,8	3
Légumineuses	0	502,8	422,4	9
	0	243,8	204,8	9

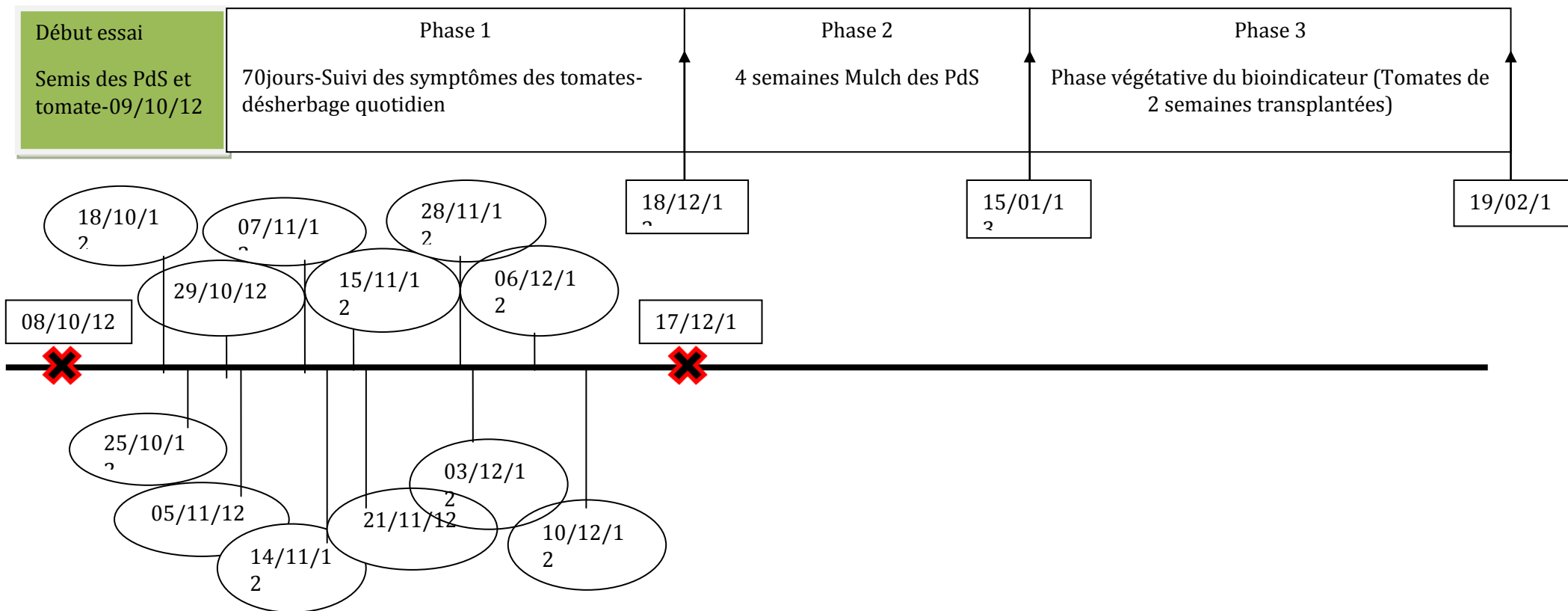
Cas spécifique de la tomate

Placette 7,68m² Placette 15,84m²	Guano (kg)	Sulpomag (kg)	Phosphate naturel (kg)	nombre de sachets à preparer
Avant plantation	1,22	0,56	0,31	3
	2,516	1,15	0,64	3
En cours de plantation	1,15	0,17	0	3
	2,37	0,35	0	3

Annexe n 5: Les quantités d'engrais à épandre lors des essais

	Date	Nombre de jours après transplantation												Essai Louis Lepasteur							
Témoins		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20
Symptômes	Bloc I																				
	Bloc II																				
	Bloc III																				

Annexe n°6:Tableau de suivi des observations des tomates.

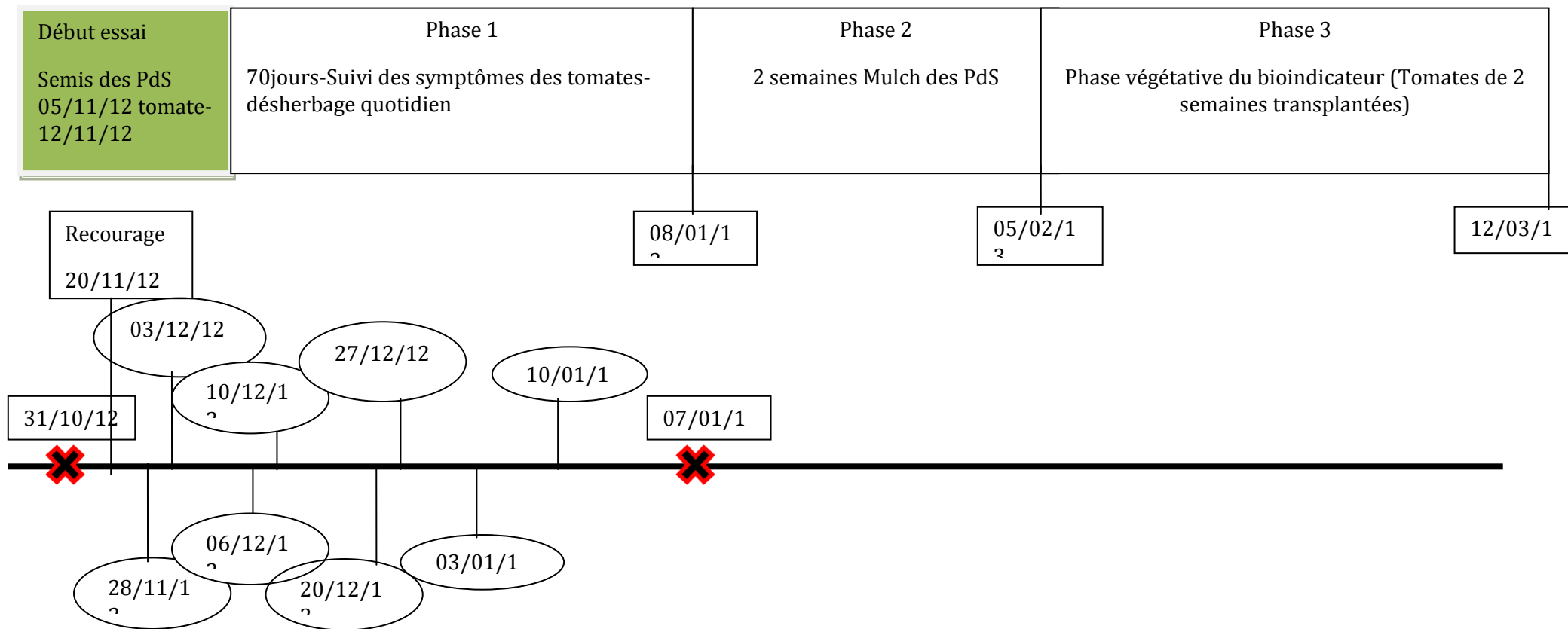


Prélèvement de terre, analysé en laboratoire



Dates des observations des symptômes de tomate

Annexe n°7: Calendrier du suivi expérimental chez Louis Lepasteur (échantillonnage/durée des phases/dates observations)



Prélèvement de terre, analysé en laboratoire



Dates des observations des symptômes de tomate

Annexe n°8: Calendrier du suivi expérimental chez Harris Elisabeth (échantillonnage/durée des phases/dates observations)

	Date: 10/12/12	Nombre de jours après transplantation: 65jrs										Essai Louis Lepasteur									
Témoins		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20
Symptômes	Bloc I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bloc II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bloc III	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Chez Louis Lepasteur

Annexes n°9: Le suivi sous fichier excel des plants de tomates

Traitements	Répétition	poids total placette (kg)	Tare (g)	poids aliquote frais+tare (g)	poids aliquote sec + Tare (g)	Ratio Humidité	Pd total sec (kg/15,84m²)	biomasse sèche (kg/ha)
T1	R1	8,7	36,59	148,51	86,46	0,58	5,06	3196,01
T1	R2	15,9	36,22	182,89	93,98	0,51	8,17	5155,51
T1	R3	15,47	36,28	335,74	141,71	0,42	6,53	4120,19
T2	R1	30,9	41,14	251,99	142,52	0,57	17,48	11027,58
T2	R2	35,7	39,32	393,07	188,1	0,48	17,08	10779,94
T2	R3	36,8	35,63	242,14	133,12	0,55	20,23	12765,97
T3	R1	26,6	34,67	259,9	100,37	0,39	10,27	6481,99
T3	R2	31,2	37,3	223	92,24	0,41	12,91	8143,26
T3	R3	38,1	37,36	242,36	98,78	0,41	15,53	9798,56
T4	R1	7,5	24,21	75,04	37,55	0,50	3,75	2368,14
T4	R2	6,6	37,38	92,6	55,09	0,59	3,93	2477,62
T4	R3	7,35	36,6	67,98	47,38	0,70	5,12	3232,44

Annexe n°10: le tableau des pesées de biomasse aérienne (essai Louis Lepasteur).

Lundi 23.10.12	Semis Tomate	
Lundi 05.11.12	Repiquage	
Jeudi 08.11.12	Traitement Bion foliaire + Sol	T1, T2, T5, T6
Mardi 13.11.12	Inoculation	Sauf T4 & T8 (Témoins)
Vendredi 16.11.12	Traitement Bion foliaire + observation	T1, T2, T5, T6
Lundi 19.11.12	observation	
Mercredi 21.11.12	observation	
Vendredi 23.11.12	Traitement Bion foliaire + observation	T2 & T6
Lundi 26.11.12	observation	
Mercredi 28.11.12	observation	
Vendredi 30.11.12	Traitement Bion foliaire + observation	T2 & T6
Lundi 03.12.12	observation	
Mercredi 05.12.12	observation	
Vendredi 07.12.12	Traitement Bion foliaire + observation	T2 & T6
Mardi 11.12.12	Fin expérimentation	
Vendredi 14.12.12	Isolement bactériologique/Résultats isolement	

Annexes n°11 : Planning récapitulatif des opérations